

SÉRIE A, n° 189
N° D'ORDRE : 213

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

KIN CHOU TSANG

- 1^{re} THÈSE. — RECHERCHES CYTOLOGIQUES SUR LA FAMILLE DES PÉRONO-
SPORÉES : ÉTUDE SPÉCIALE DE LA REPRODUCTION SEXUELLE.
2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

18 JUIN

Soutenues le juin 1929, devant la Commission d'examen.

Président : M. P.-A. DANGEARD

Examineurs : { M. A. DEREIMS
 { M. F. PICARD

PARIS

JOUE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

—
1929

SÉRIE A, n° 189

N° D'ORDRE : 213

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

KIN CHOU TSANG

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES CYTOLOGIQUES SUR LA FAMILLE DES PÉRONO-
SPORÉES : ÉTUDE SPÉCIALE DE LA REPRODUCTION SEXUELLE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

18 JUIN

Soutenues le juin 1929, devant la Commission d'examen.

Président : M. P.-A. DANGEARD

Examineurs : { M. A. DEREIMS
 { M. F. PICARD

PARIS

IOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

—
1929

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen Ch. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires . . . P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires.

A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
R. DONGIER.
E. HÉROUARD.

ÉMILE PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure
G. KOENIGS Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
H. ANDOYER Astronomie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste
Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY Zoologie (Evolution des êtres organisés)
G. URBAIN Chimie générale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique
Remy PERRIER Zoologie (Enseignement P.C.N.).
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des trans-
formations.

Professeurs

A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie.
Léon BERTRAND Géologie structurale et géologie appliquée.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
P. PORTIER Physiologie comparée.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD Botanique.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT Anatomie et Histologie comparées
O. DUBOSQ Biologie maritime.
G. JULIA Mathématiques générales.
A. MAILHE Étude des combustibles.
L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie minérale.
Léon BRILLOUIN Théories physiques.
V. AUGER Chimie appliquée



E. PÉCHARD Chimie (Enst P.C.N.).
M. GUICHARD Chimie minérale.
A. GUILLET Physique.
C. MAUGUIN Minéralogie.
L. BLARINGHEM Botanique.
A. MICHEL-LÉVY Pétrographie.
A. DENEIMS Géologie.
A. DENJOY Calcul diff¹ et intég¹.
H. BÉNARD Physique (P.C.N.).
E. DARMOIS Physique.
C. BRUHAT Physique.
H. MOUTON Chimie physique.

L. JOLEAUD Paléontologie.
M. JAVILLIER Chimie biologique.
A. DUFOUR Physique (P.C.N.).
F. PICARD Zoologie (Evolution des
êtres organisés).
ROBERT-LÉVY Zoologie.
L. DUNOYER Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND Botanique (P.C.N.).
A. DEBIERNE Radioactivité.
M. FRÉCHET Calculs des Probabilités
et Physique mathém.
N. Chimie analytique.

Secrétaire . . .

A. PACAUD.

A

MONSIEUR LE PROFESSEUR P.-A. DANGEARD

Membre de l'Institut

*Respectueux hommage de ma pro-
fonde reconnaissance.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

RECHERCHES CYTOLOGIQUES

sur

la Famille des Péronosporées

Étude spéciale de la reproduction sexuelle

INTRODUCTION

Arrivé au terme que nous nous étions assigné dans ces recherches, nous devons tout d'abord témoigner à M. le professeur Dangeard notre profonde reconnaissance pour l'aide bienveillante et les conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer.

Nous nous faisons également un plaisir de remercier M. Foex Directeur de la Station de Pathologie végétale ; M. Arnaud, Sous-directeur et M. Ducomet, professeur à l'école d'Agriculture de Grignon, pour l'amabilité avec laquelle ils nous ont fourni de nombreux matériaux d'étude.

Encore assez peu familiarisé avec la langue française, nous avons dû avoir recours fréquemment, pour exprimer exactement et correctement nos idées au dévouement de nos amis et camarades du laboratoire de Botanique, M^{rs} Kühner, Gavaudan, Clémencet, ainsi qu'à un jeune mycologue M. Boursier ; nous leur exprimons ici toute notre affectueuse gratitude.

L'Institut franco-chinois de Lyon dont la généreuse subvention a permis l'achèvement de ce Mémoire nous a rendu un immense service que nous n'oublierons pas et dont nous

remercions vivement ses Directeurs : nous rendons hommage à l'œuvre que cet Institut poursuit, en faveur de nos compatriotes avec tant de sollicitude et de succès.

Le plan de ce Mémoire comprend :

1° Un historique général.

2° Quelques indications sur la technique employée.

3° La description des espèces étudiées : *Cystopus candidus*, *Cystopus Blii*, *Cystopus Portulacae*, *Cytopus Tragopogonis*, *Peronospora effusa*.

4° L'exposé des principaux résultats obtenus sous le titre de « Conclusions ».

5° La liste des principaux ouvrages cités dans ce Mémoire : certains d'entre eux contiennent déjà une bibliographie complète, à laquelle on pourra toujours se reporter.

6° L'explication des 16 planches qui accompagnent ce travail. La terminologie adoptée est celle qui a été proposée par P. A. Dangeard (8) et (9).

HISTORIQUE GÉNÉRAL

On n'avait aucune indication sur le sort des noyaux dans la reproduction sexuelle des Oomycètes avant le mémoire de Fisch (14) qui admettait que, lorsqu'il y a reproduction sexuelle, le noyau mâle se fusionne avec le noyau femelle (*Pythium*, *Cystopus*) : les recherches qui ont suivi ont prouvé que les choses ne se passent pas d'une façon aussi simple.

Chmilewsky, a propos des *Cystopus* indiquait, à tort d'ailleurs, que l'oogone jeune ne contient qu'un très gros noyau : l'anthéridie elle aussi ne posséderait qu'un seul noyau ; la fusion n'a pas été vue ; l'oospore mûre, ne renferme qu'un noyau ; en réalité, ce prétendu noyau n'était autre chose que le gros corpuscule central qui a donné lieu à tant de discussions.

Les premiers renseignements, dont il y a lieu de tenir compte, encore bien incomplets cependant, sont dus à Wager [33] qui consacre en 1889 un mémoire à l'étude du *Pero-nospora* des Crucifères : il montre que l'oogone et l'anthéridie sont multinucléés, que ces noyaux subissent une mitose et que l'oosphère, au moment de la fécondation, ne contient qu'un noyau. Puis vient en 1890, un mémoire de P. A. Dangeard [5] qui examine au point de vue cytologique un grand nombre d'espèces et de genres : ce travail renferme quantité d'observations nouvelles pour l'époque et pose des problèmes dont on attend encore la solution, en particulier celui de la nature du gros corpuscule chromatique qui occupe le centre des oosphères ; mais il étend la notion de structure plurinucléée vue par Wager, dans les oogones et les anthéridies de

Peronospora parasitica aux *Cystopus candidus* et *cubicus* et au *Plasmopara densa* ; en outre, il fait cette remarque intéressante que dans le *Plasmopara densa*, lorsque le protoplasma se concentre au milieu de l'oogone pour fournir l'oosphère, on aperçoit deux noyaux rapprochés ; les autres sont restés dans le périplasme ; il refuse toutefois de se prononcer sur la nature de la fécondation elle-même.

Ce n'est qu'en 1896 que Wager [35] aborde avec succès cette question de la fécondation dans le *Cystopus candidus* : il constate qu'avant cette fécondation, les noyaux de l'oogone et de l'anthéridie subissent une mitose ; un d'entre eux s'en détache dans l'oogone pour donner le noyau femelle de l'oosphère, alors que l'anthéridie fournit le noyau mâle. Le noyau de fécondation qui résulte de leur union, se divise aussitôt de façon à procurer 32 noyaux à l'oospore mûre.

En 1898, Berlèse [2], de son côté, confirme sur un grand nombre de points les observations de Wager après avoir examiné le *Cystopus Portulacae* et différentes espèces de *Peronospora* : *P. Ficariae*, *P. Alsinearum*, *P. effusa* ; il distingue deux cas pour la fusion des noyaux sexuels : celle-ci aurait lieu dans *C. Portulacae* et *Peronospora Ficariae* avec des noyaux mâle et femelle, à l'état de repos, alors que pour les *P. Alsinearum* et *P. effusa*, la fusion aurait lieu entre noyaux montrant leurs chromosomes au nombre de 12 à 16 ; par suite, il pense que la réduction chromatique ne précède pas la fécondation.

En 1899, paraît un mémoire extrêmement important de Stevens [30] qui étudie dans tous leurs détails les oogones et les anthéridies de l'*Albugo* (*Cystopus*) *Biliti* ; c'est un travail dont il faut admirer sans réserve les résultats tant en ce qui concerne la structure des noyaux, leur mode de division et la façon dont ils se comportent dans la formation de l'oospore composée : dans la formation de ces oospores interviennent une centaine de fusions entre noyaux mâles provenant de l'anthéridie et noyaux femelles restés dans l'oos-

phère : ce savant signale en outre l'existence d'une papille déjà aperçue par Wager chez le *Cystopus candidus* qui se dirige de l'oogone vers l'anthéridie et précède la formation du tube anthéridien ; il note également la présence d'un corps central particulier, le coenocentre qui apparaît pendant la formation de l'oosphère et disparaît avant la fécondation. Stevens désigne encore sous le nom de zonation l'état dans lequel il existe une limite nette entre l'ooplasme et le périplasme, alors qu'il n'existe encore aucune membrane les séparant.

Cette même année 1899, Wager [36], dans une note sur la sexualité des Champignons, compare les résultats obtenus par P. A. Dangeard, concernant la reproduction sexuelle des Champignons supérieurs, avec ceux qui viennent d'être signalés.

En 1900, Wager [37] reprend la question de la fécondation dans le *Peronospora parasitica* : il la décrit à nouveau en détail, montrant que la fécondation ne comprend que l'union tardive dans cet exemple d'un noyau mâle et d'un noyau femelle : tous les autres noyaux restent dans le périplasme. Il retrouve dans l'oosphère le coenocentre de Stevens, qu'il désigne sous le nom de « central body » mais il l'assimile à tort au gros corpuscule chromatique signalé par P. A. Dangeard dans les oospores mûres.

Cette même année 1900 voit paraître un travail de Davis [13] sur la fertilisation chez l'*Albugo candida* ; tous les phénomènes qui l'accompagnent sont décrits avec une grande précision et la démonstration de la structure uninucléée de l'oosphère est donnée d'une façon définitive ; les diverses transformations du coenocentre depuis son apparition dans l'oogone jusqu'à sa disparition au moment de la fusion sont décrites en détail ; ce savant faisant allusion à l'*Albugo Bliti* propose d'appeler coenogamète, les masses multinucléées de cytoplasme dont chaque noyau est sexuel et prend part à la formation de l'oospore composée.

Chaque année a vu paraître un mémoire sur cette question de la reproduction des Péronosporées : celui de Stevens [31] en 1901, va clore, on peut le dire, pour de longues années, la liste de ces travaux.

Ce mémoire de Stevens, important comme le premier, est consacré aux différentes espèces d'*Albugo*, *A. Portulacae*, *A. Tragopogonis*, *A. candida*, dont il résume les principaux caractères cytologiques en faisant ressortir les principaux caractères communs et les différences ; ces notions sont devenues depuis longtemps classiques.

Stevens s'attache à montrer que Berlèse a dû se tromper sur plusieurs points dans sa description de l'*Albugo Portulacae* : c'est ainsi que Berlèse parle d'une trentaine de noyaux dans l'oogone avant la mitose et il dit que ces noyaux se divisent plusieurs fois, les nucléoles disparaissant à la prophase ; Stevens en compte 3 à 400 qui subissent deux mitoses successives et conservent leurs nucléoles jusqu'à l'anaphase. Berlèse parle d'une douzaine de noyaux dans l'anthéridie, tandis que Stevens parle d'un nombre plusieurs fois plus grand ; d'après le premier auteur, on pourrait compter le nombre des chromosomes pendant la fusion, alors que pour le second, les noyaux sont au stade de repos, avec des chromosomes absolument indistincts.

Toutes ces différences ont conduit Stevens à se demander si Berlèse avait bien étudié la même espèce que lui ; après avoir émis différentes hypothèses à ce sujet, il en arrive à conclure que le problème ne sera définitivement résolu qu'après un nouvel examen de la forme italienne d'*Albugo*.

Dans son dernier travail, 1902, Stevens [32] étudie le *Sclerospora graminis* qui est un genre de Péronosporées intermédiaire entre les *Peronosporaceae* et les *Albuginaceae* ; les caractères histologiques de cette espèce la rapprochent du genre *Peronospora* dont elle partage presque entièrement le mode de reproduction.

En 1904, Ruhland [28] publie un mémoire sur la repro-

duction sexuelle des *Cystopus Lepigoni*, *Peronospora Alsinearum*, *Sclerospora graminicola*, *Plasmopara densa*.

En ce qui concerne le *Cystopus Lepigoni*, l'auteur estime que le nombre des chromosomes ne dépasse pas 4 ou 5 ; le coenocentre à un moment donné offre un aspect étoilé ; les noyaux sexuels qui vont se fusionner montrent à leur intérieur un beau spirème ; la première mitose du noyau de fécondation offre à l'intérieur de la membrane nucléaire un beau fuseau et des chromosomes très distincts ; les mitoses successives portent le nombre des noyaux de l'oospore à 70 ou 80.

La description du *Peronospora Alsinearum* est succincte et rappelle ce que l'on connaît de la reproduction sexuelle dans ce genre, d'après les travaux de Wager. A noter pour le *Sclerospora graminicola*, l'existence pour la première fois constatée, il semble, dans cette famille, de chromosomes en forme d'U ou de V ; le coenocentre manque.

Chez ce *Plasmopara densa*, ce sont deux noyaux sexuels seulement qui s'unissent au centre de l'oosphère, comme chez les *Peronospora* ; mais il paraît que le noyau femelle subit une mitose avant de s'unir tardivement au noyau mâle ; la papille réceptive est rudimentaire et le coenocentre manque ; l'auteur a vu un oogone qui renfermait plusieurs oosphères et rappelait ainsi un oogone de *Saprolegnia*. Le fait aurait besoin d'être confirmé, car l'apparence pourrait être due à la présence d'un parasite.

Une autre espèce de *Plasmopara*, le *P. alpina* avait fait en 1903 l'objet des observations de Rosenberg [26] ; Ruhland y fait allusion dans son mémoire.

Le degré de perfection de ces recherches sur le comportement des noyaux, au cours de la reproduction sexuelle, ne nous aurait guère permis d'aborder avec grand succès la cytologie des Péronosporées, s'il ne s'était produit, dans ces dernières années, des conceptions entièrement nouvelles au sujet des constituants du cytoplasme.

C'est ainsi que nos idées sur la constitution du système vacuolaire ont été complètement modifiée par les travaux de P. A. Dangeard, lequel dès 1916 [6] constate que les vacuoles de *Himanthidium pectinale* au lieu de contenir une solution aqueuse, comme on l'admettait, renferment en réalité une solution colloïdale plus ou moins épaisse qui se précipite en corpuscules chromatiques de différentes grosseurs ; dans cette même note, il étend cette notion à un grand nombre de Champignons et d'Algues.

Le nom de *vacuome* est appliqué pour la première fois en 1919 par P. A. Dangeard [7] au système vacuolaire et il a été adopté depuis par tous ceux, botanistes ou zoologistes qui se sont occupés de cette formation.

Un peu plus tard, Pierre Dangeard [11] dans un mémoire qui fait autorité et qui renferme une bibliographie très complète du sujet, étudie en détail le vacuome chez un certain nombre de Phanérogames ; il admet que les vacuoles ne se forment jamais de *novo*.

Les importantes recherches de Guillermond [16] et de Parat [25] montrent quelle répercussion cette notion du vacuome a eue dans l'étude cytologique de la cellule animale et de la cellule végétale.

Nous devons tout naturellement, pour notre compte, étendre cette notion du vacuome aux Péronosporées ; elle nous a permis de déterminer, parmi d'autres constatations intéressantes, l'origine du « globule central » des oosphères lequel avait donné lieu, depuis fort longtemps à de nombreuses controverses.

Mais c'est surtout sur la formation désignée sous le nom de cytome qui correspond à une partie du chondriome de la cellule animale que notre attention devait se porter [10], si plusieurs auteurs l'ont décrite chez d'assez nombreux Champignons, on ignorait à peu près tout de ses caractères chez les Péronosporées ; un seul, Lewitsky [19] l'avait aperçue dans le *Cystopus Bili* et le *C. candidus* ; la description

qu'il en donne était complètement à reprendre, car cet auteur sous l'influence des idées émises par Guillermond et rectifiées depuis par ce savant, croyait alors à une relation de parenté entre les chondriosomes et les corpuscules métachromatiques contenues dans les vacuoles ; nous avons vu précédemment que l'origine exacte des corpuscules métachromatiques a été établie par P. A. Dangeard en 1916.

Technique

A. Pour le cytome :

La fixation.

Le liquide de Regaud dont la formule que nous employons est la suivante :

Bichromate de Potasse à 3 %.....	4 parties
Formol commercial à 40 %.....	1 partie

conserve très bien le cytoplasme et les cytosomes ; malheureusement il est impossible d'étudier les noyaux avec ce fixateur ; ceux des œufs apparaissent souvent comme des taches homogènes et dans ceux des conidies et des mycéliums, le nucléole est seul bien colorable, les filaments du spirème restant à peu près invisibles dans le nucléoplasme hyalin.

Ce fixateur est le meilleur pour les cytosomes et doit être préparé au moment de l'emploi. Les objets y restent quatre jours, après quoi, on les transporte pour une semaine dans du bichromate de potasse à 3 %.

La coloration.

A peu près constamment nous avons utilisé la coloration à l'hématoxyline avec mordantage et régression à l'alun de fer ammoniacal.

B. Pour le noyau :

La fixation.

Le fixateur qui nous donne le meilleur résultat pour le noyau est le liquide chromo-acétique, dont la formule est la suivante :

Acide chromique	0,8 %
Acide acétique	0,1 %

Ce fixateur est surtout recommandé par Stevens dans ses travaux sur la famille de Peronosporacées.

Certes, le fixateur Flemming faible est très bon aussi, mais l'acide osmique noircit trop le matériel. Pour éviter cet inconvénient, il faut le décolorer avec l'eau oxygénée.

La coloration.

Nous avons employé la triple coloration de Flemming décrite dans tous les traités classiques. Lorsque la coloration est bien réussie, les chromosomes se colorent en bleu, les centrosomes en rouge et les fuseaux en bleu pâle.

C. Nous n'insistons pas sur les procédés de lavage, de deshydratation, d'inclusion dans la paraffine et enfin de sectionnement pour lesquels on trouve de nombreux détails dans tous les Manuels d'histologie.

DESCRIPTION DES ESPÈCES

1° *CYSTOPUS CANDIDUS*

Les premiers renseignements sur l'histologie du *Cystopus candidus* paraissent dus à P. A. Dangeard [5], *loc. cit.*, p. 125 ; on ne peut guère tenir compte en effet des indications erronées fournies par Chmielewski en 1888 tout au plus peut-on rappeler un travail de Fisch, en 1885, lequel après avoir étudié la structure et la fécondation dans le genre *Pythium* admet,

à la suite d'observations incomplètes qu'il doit en être de même dans les *Cystopus*.

Le mérite d'avoir décrit assez exactement la reproduction sexuelle chez le *Cystopus candidus* revient à Wager 1896 [35] et Davis 1900 [13] n'a fait qu'y ajouter certains détails qui complètent heureusement cette description.

Enfin Stevens en 1901 [31] n'a pas manqué d'étudier à nouveau cette espèce pour la comparer à l'*Abugo Portulacae* et à l'*Albugo Tragopogonis*.

Nous reviendrons plus en détail dans notre exposé sur les résultats obtenus par ces divers savants ; mais nous devons dire que si nous avons cru devoir reprendre l'ensemble du développement, c'est plutôt en vue d'une confirmation des faits annoncés que dans l'espoir de nouvelles découvertes sur la façon dont se comportent les noyaux ; chemin faisant, il nous a cependant été possible d'apporter une contribution personnelle non négligeable, principalement en ce qui concerne la germination des oospores.

Notre but visait surtout à bien établir comment se comportait le cytome dans les Péronosporées et comment il se transmettait d'une génération à la suivante : de ce côté, les résultats obtenus sont aussi complets qu'entièrement nouveaux.

Incidemment aussi, nos observations sur le vacuome ont fourni des résultats intéressants et qui ont permis d'élucider certains problèmes restés en suspens.

Ces considérations s'appliquent non seulement au *Cystopus candidus* mais également aux autres espèces.

I. — LA REPRODUCTION SEXUELLE.

Le *Cystopus candidus* attaque presque toutes les espèces de la famille des Crucifères. Sur *Capsella Bursa-Pastoris*, il se trouve en abondance sur la tige. Dans la partie de la tige où il y a beaucoup d'oogones au commencement de leur développement, il se présente avec une couleur rouge violacée

foncée et gonfle légèrement la surface. Lorsque les oogones sont mûrs, la tige brunit et pourrit, on peut alors déchirer les tissus facilement.

Le jeune oogone est formé par un renflement du mycélium. Le cytoplasme et de nombreux noyaux passent rapidement du mycélium dans la partie élargie. A l'entrée du jeune oogone, où le cytoplasme est très dense, on voit des radiations et striations qui vont dans le jeune oogone. Ce phénomène d'écoulement du cytoplasme a été remarqué d'abord par Istvanffi, puis par les autres auteurs, qui ont fait des recherches sur les Péronosporées. Le jeune oogone à ce stade présente une forme irrégulière ; la forme des noyaux est très variable (fig. 1, planche I). Au fur et à mesure que le jeune oogone se remplit, il prend une forme sphérique. Les noyaux deviennent arrondis et le cytoplasme est réticulé (fig. 2, planche I). A ce moment, le jeune oogone se sépare du mycélium par une cloison et c'est ainsi qu'il est définitivement formé.

Le nombre des noyaux dans le jeune oogone varie de 60 à 100 suivant sa grandeur. Ces noyaux qui sont un peu plus gros que ceux du mycélium possèdent une membrane, un nucléole et un réseau chromatique (fig. 3 et fig. 3 bis, planche I).

L'anthéridie se développe en même temps que l'oogone. Elle s'applique sur la membrane de ce dernier. Sauf l'écoulement du cytoplasme qui n'est pas très sensible dans l'anthéridie, le reste se passe à peu près comme dans l'oogone. Lorsque l'anthéridie est bien formée, elle se sépare du mycélium qui lui a donné naissance par une cloison. Le nombre des noyaux dans l'anthéridie varie de 6 à 16 environ. Après sa formation, les noyaux prennent la forme ordinaire. Quant au cytoplasme, il est beaucoup plus dense que celui de l'oogone, et par suite, il n'est pas facile de l'étudier à ce moment.

Dans l'oogone, le cytoplasme après fixation par les réactifs est partout un peu retractsé par rapport à la membrane

sauf du côté où l'anthéridie s'applique sur l'oogone ; là se trouve une masse homogène, épaisse et granuleuse de cytoplasme qui est considéré par Wager comme une première indication de la future « tache réceptive » (fig. 4, planche I). C'est cette masse qui va donner une sorte d'enzyme destinée à perforer la membrane, d'après Wager et certains auteurs.

A partir de ce stade, les noyaux augmentent de volume et leurs réseaux deviennent plus nets ; le cytoplasme de l'oogone devient plus vacuolaire. Ces changements nous conduisent jusqu'au moment de la division des noyaux et de la formation de l'oosphère.

A. Formation de l'oosphère et du tube fécondateur.

Dans cette petite masse épaisse et granuleuse, du côté de l'oogone près de l'anthéridie, apparaît un espace hyalin d'où part une sorte de papille fortement colorable, dans la direction de l'anthéridie, tendant à se frayer un chemin à travers la membrane de l'oogone. C'est cette papille qui est désignée sous le nom de « papille réceptive » (fig. 5, planche I et fig. 3, planche IV). Le cytoplasme de l'anthéridie se contracte d'abord, puis celle-ci émet un tube fécondateur qui pénètre dans l'oogone par le même chemin suivi précédemment par la papille. Cette dernière opération a lieu quand la formation de l'oosphère a commencé (fig. 5, planche I).

La différenciation de l'oosphère chez ce *Cystopus* est beaucoup plus simple que chez les autres espèces ; par contre, son cytoplasme est beaucoup plus vacuolaire. Tout d'abord, il n'y a pas de condensations partielles préalables de cytoplasme, comme dans le *Cystopus Bliti*, mais simplement une sorte de déplacement de la périphérie vers le centre aboutissant à la formation d'une masse centrale ; le cytoplasme laisse derrière lui des trabécules qui la relie à la membrane de l'oogone (fig. 2, 3, planche III).

Puis, cette oosphère rudimentaire devient de plus en plus

vacuolaire, et le cytoplasme en dehors de l'ooplasme se condense pour former le périplasme d'ordinaire épais, peu ou non vacuolaire (fig. 5, planche I).

Au moment de la différenciation de l'oosphère, les noyaux se dirigent vers la périphérie de l'oosphère. C'est là qu'ils effectuent pour la plupart leurs premières divisions. Les noyaux, après leur augmentation de volume, ont beaucoup de granules chromatiques dispersés dans leurs réseaux. Il nous semble que les nucléoles sont toujours présents à ce stade, et même aux stades ultérieurs, contrairement à ce qu'a dit Wager dans ses recherches sur cette espèce. Nous avons vu des cas où les réseaux semblent se contracter au centre des noyaux et former une masse exactement semblable à celle qu'a trouvée Wager, mais ces cas exceptionnels se trouvent surtout à côté des mitoses en métaphases, ce qui montre que ce sont tout simplement en général des fuseaux qui sont vus de face (fig. 2, planche III).

Pendant la division des noyaux, il apparaît au centre de l'oosphère rudimentaire un amas dense qui se colore différemment du cytoplasme environnant. A première vue, c'est une masse presque homogène, mais, en examinant attentivement, on y trouve de nombreux granules plus ou moins coalescents. C'est le coenocentre.

Ce coenocentre est peut-être produit par l'accumulation des granulations chromophiles du cytoplasme. Tout de suite après son apparition, quelques noyaux fils rentrent de la périphérie dans l'oosphère où ils subissent la deuxième division. Chose curieuse, les fuseaux de la deuxième mitose, attirés par le coenocentre, vont directement se mettre en contact avec ce dernier, et on voit souvent quelques fuseaux qui enfoncez leurs extrémités dans le coenocentre, comme si c'était pour y puiser leur nourriture ou pour se fixer (fig. 1, planche III). Généralement, ces fuseaux sont deux fois plus longs que ceux de la première mitose. Les noyaux qui restent dans le périplasme ne subissent pas de deuxième division.

A ce stade, l'oosphère est presque différenciée, bien que sa membrane ne soit pas encore formée. Il est à noter que la membrane de l'oosphère ne se formera qu'au moment où la fécondation aura lieu ou peu après.

Chez cette espèce, quel est le stade qui correspond le mieux au stade de zonation des autres espèces ? Nous ne pouvons pas le préciser ; d'après Stevens, c'est le stade, où tous les noyaux sauf un retournent dans le périplasme. A ce moment, le périplasme et l'ooplasme sont bien différenciés.

B. *La première mitose.*

Dans son travail, Wager avait indiqué que, chez cette espèce, il n'y a pas de centrosomes. Au cours de la division, les noyaux perdent d'abord leurs nucléoles et presque aussitôt, leurs réseaux deviennent plus visibles et granuleux. D'après lui, ce sont ces réseaux qui se transforment en des chromosomes ayant l'aspect de granules.

La première mitose débute dans des oogones qui montrent déjà un commencement de différenciation ; au centre se voit une masse de cytoplasme plus dense qui est reliée à la périphérie par des trabécules entourant de grands espaces vacuolaires ; les noyaux au commencement de la prophase sont encore arrondis. On rencontre dans le même oogone des noyaux d'apparence uniquement granuleuse ou réticulée granuleuse ; mais il en existe d'autres qui sont à un stade un peu plus avancé ; ceux-ci montrent un beau spirème constitué par un ruban, en grande partie homogène, enroulé en spirale, au contact de la membrane nucléaire.

L'existence d'un spirème aussi caractéristique est importante à constater et les auteurs qui en ont parlé n'ont pas toujours assez insisté sur son importance ; la mitose de ces noyaux pourtant si petits rentre ainsi exactement dans le schéma général que l'on connaît dans des familles plus élevées en organisation, telles par exemple, que les Ascomycètes

(consulter en particulier le mémoire de M^{lle} Panca Eftimiu et Kharbush, *Le Botaniste*, série XX, 1928).

Naturellement, comme chez ces derniers champignons, les chromosomes proviennent de la fragmentation de ce spirème, mais leur nombre est beaucoup plus élevé ; c'est au moment où ces chromosomes approchent de l'équateur du noyau qui s'est allongé que l'on voit apparaître aux deux extrémités un centrosome.

Douze à seize chromosomes ont été comptés par Wager : Davis croit que ce chiffre est probablement exact ; nous ne pensons pas qu'il soit jamais supérieur à 12 et encore devons-nous ajouter qu'on a souvent l'impression qu'il ne dépasse guère le chiffre de 10.

Le fuseau étant intranucléaire, commence à se former aux deux extrémités du noyau, puis ses fibres rayonnent jusqu'à l'équateur (fig. 1, planche II) ; son origine exacte est difficile à préciser.

La métaphase est marquée par la formation de la plaque équatoriale. Quand les chromosomes se rassemblent à l'équateur, ils prennent une position transversale pour former la plaque équatoriale et commencent à se diviser ; on en compte 12 au plus et encore difficilement. A ce stade, les centrosomes sont assez nets à chaque extrémité du fuseau. Quant au nucléole, on le trouve quelquefois en dehors du fuseau, mais en dedans de la membrane nucléaire (fig. 1, planche II).

L'anaphase est marquée par la migration des chromosomes vers les deux pôles du fuseau. Les chromosomes se divisent en deux groupes, dont chacun se dirige vers un pôle ; ils se déplacent généralement avec des vitesses inégales. A ce moment, le fuseau a perdu ses pointes polaires et la membrane du noyau n'est plus visible. Les chromosomes, une fois arrivés au pôle, s'unissent entre eux. Les quelques fibres qui joignent encore les deux groupes de chromosomes se rompent au milieu, et les noyaux fils sont formés. Après la première division, le nombre des noyaux dans l'oogone est

naturellement doublé ; 100 à 150 noyaux ont été comptés, suivant la grandeur, dans tout l'oogone.

C. *La deuxième mitose.*

La deuxième division affecte quelques noyaux seulement dans l'oosphère. Entre la première et la deuxième mitose, il n'y a pas beaucoup de différence, si ce n'est que les fuseaux de la deuxième sont beaucoup plus longs que ceux de la première.

L'ooplasme est uniformément distribué, avec au centre un coenocentre granuleux, très coloré et entouré d'une zone de cytoplasme dense, faiblement chromophile. Si l'on en juge par le rattachement de 2 ou 3 fuseaux au coenocentre, ce dernier doit exercer une attraction assez grande sur les fuseaux. Cette attraction a été indiquée par Wager d'abord, puis confirmée par Davis et Stevens. Quand ces fuseaux ont achevé leur division, les noyaux fils se détachent peu à peu du coenocentre, de sorte que, à la fin, il n'y reste qu'un seul noyau qui y puise peut-être sa nourriture pour augmenter de volume. Théoriquement, tous les noyaux sauf un devraient sortir de l'ooplasme, mais, on en trouve encore un ou deux qui persistent dans l'oosphère (fig. 3, planche III).

D. *Fécondation.*

Nous avons décrit les changements qui se passaient dans l'oosphère, mais, il s'en produit également dans l'anthéridie, notamment, la vacuolisation du cytoplasme et la division des noyaux. La division des noyaux est simultanée dans l'oogone comme dans l'anthéridie, de sorte que, à la fin de la mitose, le nombre des noyaux de l'anthéridie est doublé. Nous n'avons pas pu constater si la deuxième mitose existe dans l'anthéridie.

Au moment où l'oosphère est bien différenciée, le tube

fécondateur pénètre dans le périplasme et son extrémité vient toucher l'ooplasme. Au fur et à mesure que le tube pénètre dans l'oosphère, il s'élargit fortement et prend toujours la forme d'une massue plutôt que d'un sac (fig. 5 et fig. 8, planche IV) comme l'a figuré Wager. Dans le tube, on voit à l'extrémité un noyau qui vient de l'anthéridie, et du cytoplasme épais qui devient vacuolaire au fur et à mesure que le tube s'élargit (fig. 8, planche IV). Wager croit qu'une partie de ce cytoplasme est utilisée pour la formation de la membrane du tube. Il est très possible qu'un deuxième noyau puisse passer à la base du tube, mais, nous ne savons pas s'il entre dans l'oosphère, quand le tube libère son contenu. Parfois on voit une sorte de vide qui se produit autour et en avant du tube.

Quand le tube est arrivé jusqu'au centre de l'oosphère, son extrémité se gonfle de façon à ce que sa membrane devienne aussi mince que possible en ce point. Cette partie de la membrane se dissout pour laisser passer le contenu du tube. Aussitôt après la libération de son contenu, le tube se contracte et perd de sa netteté : l'on voit encore ses traces dans le périplasme aux stades ultérieurs (fig. 6, planche II). Une partie seulement du cytoplasme de l'anthéridie passe dans le tube. Le cytoplasme qui reste dans l'anthéridie est largement vacuolaire avec des cytosomes et des noyaux qui vont dégénérer.

Le noyau mâle, une fois libéré, entre tout de suite en contact avec le noyau femelle. Il est un peu plus petit que ce dernier, mais il augmente de volume pour devenir finalement aussi gros que lui. Les deux noyaux restent un moment en contact, puis ils se fusionnent (fig. 3, planche II). C'est toujours à l'état de repos que les deux noyaux se fusionnent. Dans ces noyaux à l'état de repos, on distingue très bien les nucléoles qui vont se fusionner à leur tour. Si nous avons trouvé des cas où les noyaux contiennent beaucoup de granules, c'est que les noyaux ne sont pas à l'état de fusion. A

ce moment, le coenocentre a complètement disparu. Il a donc une existence très brève. Apparu au moment de la première mitose, il arrive à son maximum de développement au moment de la différenciation de l'oosphère, et disparaît complètement après la fusion. Une membrane mince se forme autour de l'oosphère à ce stade.

E. Maturation de l'oosphère.

Après la libération du noyau mâle et du cytoplasme qui l'accompagne, le tube fécondateur persiste encore un moment, malgré la désorganisation de son extrémité et la perte de sa turgescence à la suite de l'expulsion cytoplasmique qui vient de se produire ; on en retrouve des traces dans le périplasme (fig. 6, planche II). Le cytoplasme dense venant du tube est à ce moment mélangé à celui de l'oosphère et le contenu de l'œuf contient de nombreuses vacuoles arrondies, de dimensions variables.

Dans l'impossibilité où nous nous sommes trouvé, ainsi que tous les auteurs précédents de constater l'existence d'une réduction chromatique lors des deux mitoses de l'oogone, nous devons apporter une attention particulière aux premières divisions du noyau de fécondation de l'oospore.

Ce noyau, après la fécondation, augmente considérablement de volume : il montre un très gros nucléole dense, homogène, se colorant en violet par la triple coloration de Flemming : le nucléoplasme est également abondant et dense, peu chromatique, de teinte jaunâtre.

Plus tard, au moment de la prophase, des granules chromatiques apparaissent alors que le nucléole est en résorption ; le noyau s'allonge, sa membrane devient distincte : aux deux extrémités du fuseau apparaissent les centrosomes (fig. 5, planche III).

On a nettement l'impression que cette première division est nettement différente de celles qui se produisent dans

l'oogone ; le nombre des chromosomes paraît double à la plaque équatoriale (fig. 8, planche III) et il s'agit probablement de chromosomes bivalents ; le fuseau s'allonge considérablement, montrant deux pointes effilées dans lesquelles à l'anaphase, les chromosomes s'accumulent et paraissent se confondre en une masse triangulaire.

À la seconde division, les fuseaux sont encore très allongés, mais beaucoup plus étroits ; les chromosomes étaient indistincts à la plaque équatoriale ; lors de l'anaphase, ces chromosomes étaient encore confondus en une masse triangulaire chromatique, mais celle-ci était très réquie par rapport à celle de la première division.

Notre description est plus complète que celle de Wager [34] p. 335 ; elle en diffère sur certains points en particulier sur la forme si spéciale du fuseau ; ce qui nous paraît presque certain, c'est l'existence d'une réduction chromatique à ce stade du développement.

La division suit son cours normal, et bientôt, on trouve plusieurs noyaux dans l'oosphère ; puis, ces noyaux se divisent à leur tour jusqu'au nombre de 32 noyaux selon Wager (fig. 7, planche III). Seulement, dans les divisions successives, le nombre de chromosomes est nettement bien inférieur à celui de la division qui vient tout de suite après la fécondation.

Ces noyaux qui dans une seule section peuvent être au nombre de huit sont devenus très petits avec un nucléole très net ; parfois, on distingue un fin réseau de linine.

L'oospore, au moment où le noyau de fécondation augmente de volume possède de nombreuses petites vacuoles ; chacune d'elles renferme une endochromidie sous forme d'un petit corpuscule.

Par la suite ces petites vacuoles s'unissent pour en former de plus grosses et leur chromidium fournit des globules plus gros ; le phénomène se continue jusqu'au moment où toutes les vacuoles fusionnées donnent naissance à une grande va-

cuole unique qui renferme le gros corpuscule chromatique signalé autrefois par P. A. Dangeard. Il s'agit bien ici du vacuome, car nous avons réussi à colorer cette grande vacuole centrale dont le contenu est devenu si dense par le rouge neutre; ce contenu de la vacuole qui constitue une réserve est formé ou imprégné de substances certainement très diverses comme de la métachromatine, des albuminoïdes, des substances phénoliques et sans doute aussi des substances grasses; cette complexité dans sa composition explique son comportement à l'égard des réactifs fixateurs et des réactifs colorants, acide osmique, rouge neutre. Soudan III, etc. (1).

Au fur et à mesure que les vacuoles se fusionnent pour donner la vacuole centrale, les noyaux de l'oospore, d'abord dispersés dans toute l'oospore se trouvent réunis dans la couche pariétale de cytoplasme.

Au cours de la division du noyau de fusion, l'exospore commence à se former. Tout d'abord, à l'intérieur de la membrane primitive — ce nom a été donné par Stevens à la membrane de l'oosphère, à cause de son apparition précoce — l'ooplasme s'écarte un peu partout pour ménager la place nécessaire à la formation de l'endospore (fig. 5, planche III). Un peu plus tard, on trouve à l'extérieur de cette membrane une couche qui est formée la première et qui est traversée par des canalicules serrés dans la partie intérieure de la couche (fig. 5, 7, 8, planche V). C'est cette couche qui est appelée par Wager « columnar layer ». La coque se forme presque en même temps que l'endospore. Cette dernière consiste en une couche homogène, épaisse, régulière, transparente, colorable en bleu clair par le carmin d'indigo. La coque est toujours épaisse, jaune, ornée de côtes saillantes

1. Nous devons d'avoir pu éclaircir l'origine du corpuscule central de l'oospore des Péronosporées, aux indications de notre maître P.-A. Dangeard qui venait précisément de suivre les mêmes phénomènes dans l'oospore des Sapro-légniées.

(verruqueuse en coupe optique). Entre l'endospore et la « columnar layer », ou couche striée, se trouve une couche intercalaire très mince, à peine visible. Ces 3 couches forment l'exospore (fig. 2, 8, planche V ; fig. 7, planche III).

Nous croyons que l'exospore, surtout la coque, se forme dans le périplasme, tandis que l'endospore se formerait dans l'ooplasme. Malgré la formation de la coque, on voit quelquefois du périplasme avec ses noyaux en dégénérescence en dehors de celle-ci (fig. 4, planche III ; fig. 6, planche V).

Quelle est la composition chimique de l'exospore et de l'endospore ? Ces deux membranes sont colorées en bleu violacé par l'acide phosphorique iodé, donc, sont au moins partiellement cellulosiques, mais, en employant la double coloration bleu de naphtylène-vert acide, nous avons pu colorer l'exospore en violet et l'endospore en vert, ce qui peut faire penser à la présence de composés pectiques dans la coque. C'est pourquoi nous avons essayé aussi le rouge de ruthénium, colorant les composés pectiques, en mélange avec l'azurine brillante. Les résultats sont variables. Tantôt la coque est colorée en rose, tantôt en bleu. Sans doute, au début, n'y a-t-il pas de composés pectiques, mais seulement de la cellulose, d'où la coloration bleue obtenue avec l'azurine-brillante : plus tard, la coque se chargerait de composés pectiques colorables en rose par le rouge de ruthénium.

L'exospore comme l'endospore renferment aussi de la callose, car ces deux membranes se colorent par le bleu coton après traitement successif par l'acide chlorhydrique concentré et le réactif de Schweitzer.

Ce qui caractérise cette espèce, c'est que l'œuf germe avant le repos d'hiver.

F. *Cytome et Vacuome.*

Chez cette espèce, le système vacuolaire est beaucoup plus développé que chez les autres espèces ; à part quelques exceptions l'ooplasme reste toujours plus ou moins vacuolaire.

Le périplasme à un moment donné, est épais, mais, aux stades ultérieurs, il devient également très vacuolaire.

Le cytome se trouve en abondance dans le jeune oogone ; avec la triple coloration, ses petits corpuscules prennent une coloration jaune ou rouge ; les cytosomes nombreux sont dispersés dans les trabécules du cytoplasme. Ils sont noirs et très nets quand on les colore à l'hématoxyline ferrique après fixation dans le liquide de Regaud (fig. 1, 2, 3, planche IV).

Au stade de différenciation de l'oosphère, le nombre de ces petits corpuscules a généralement diminué dans l'ooplasme mais, par contre, des stades de division ont pu y être trouvés. Ces corps en bâtonnets restent toujours le long des trabécules, puis ils se divisent en deux, de sorte qu'on voit le plus souvent les cytosomes appariés. Dans le périplasme, à ce stade, les cytosomes sont nombreux et paraissent un peu plus gros que ceux de l'ooplasme. Ce n'est que rarement qu'on peut trouver des stades de division des cytosomes dans le périplasme (fig. 4, 7, pl. IV).

Dans les jeunes stades de l'anthéridie, on distingue difficilement ces petits corpuscules à cause de la densité et de la forte colorabilité du cytoplasme, mais dès que le cytoplasme devient un peu vacuolaire après la sortie du tube fécondateur, on voit nettement les cytosomes qui se trouvent dans les trabécules du cytoplasme (fig. 2, 3, planche IV).

Au stade de la fécondation, le tube fécondateur apporte à l'oosphère, outre un noyau mâle, un peu de cytoplasme qui entraîne nécessairement des cytosomes avec lui (fig. 5, 6, planche IV). A ce stade, les cytosomes sont toujours moins nombreux dans l'ooplame que dans le périplasme ; ceux de l'ooplasme sont un peu plus petits que ceux du périplasme, ce qui semble en relation avec la dimension des mailles.

Lorsque l'oospore mûrit, les cytosomes sont encore très nets dans le périplasme, mais, dans l'ooplasme, ils sont généralement masqués par les globules qui se forment en abon-

dance à ce stade. Dès que ces globules se sont rassemblés en formant une masse centrale, les cytosomes réapparaissent nettement dans la couche pariétale du cytoplasme de sorte que, même dans les œufs formés, on trouve toujours des cytosomes, plus ou moins colorables (fig. 2, 5, planche V).

Les endochromidies apparaissent aussi de bonne heure, mais elles sont très peu nombreuses dans le jeune oogone. Dans la triple coloration, ces corps prennent aussi la couleur jaune, mais il ne faut pas les confondre avec les cytosomes. D'ailleurs, la différence entre ces deux sortes de corpuscules est théoriquement très facile à établir : les endochromidies se trouvent toujours dans les vacuoles, tandis que les cytosomes se trouvent sur les trabécules. De plus, elles sont assez peu colorées par l'hématoxyline, tandis que les cytosomes sont toujours noirs. Au stade de différenciation de l'oosphère, ces endochromidies sont assez nombreuses dans les vacuoles du périplasma. Dans l'ooplasme, elles ne sont pas moins nombreuses, mais elles sont beaucoup plus petites que celles du périplasma, de sorte qu'on pourrait parfois les confondre avec les cytosomes (fig. 2, 3, planche III ; fig. 2, planche II). Dans l'anthéridie, on en trouve toujours quelques-unes quand le cytoplasme est devenu largement vacuolaire. Au stade de la maturation de l'oospore, ces corps restent visibles dans le périplasma ; dans l'ooplasme, il n'est pas facile de les distinguer à cause des globules qui ont presque rempli l'oosphère.

La troisième catégorie de corps apparaît seulement dans l'oosphère mûre, quand la membrane commence à se former. Ces corps sont tellement nombreux qu'ils remplissent l'oosphère tout entière (fig. 5, planche V). Dans les coupes très minces, on constate qu'ils sont dans les vacuoles (fig. 3, 5, planche II), ce qui nous fait penser à les considérer comme des endochromidies. Pour beaucoup d'auteurs, ces globules sont des graisses. Pour Stevens, ce sont des réserves ou des vésicules qui ont perdu leur contenu gras au cours de la fixation et de l'inclusion. Souvent, on voit dans ces globules, des

petites gouttelettes brillantes et réfringentes (fig. 7, planche III). Si l'on essaie de saponifier ces globules, on n'aboutit qu'à la formation d'un très petit nombre de cristaux ; aussi pensons-nous que ces globules et la masse centrale ne sont pas uniquement formés de graisses.

Même au stade où les globules sont réunis pour former une masse centrale, cette masse paraît déposée sur une sphère creuse. Dans la triple coloration ainsi que dans la coloration à l'hématoxyline, cette masse centrale est toujours plus pâle que son substratum. Cette distinction n'est pas facile à faire vitalement. Sur le vivant, nous avons réussi à la colorer par le rouge neutre, elle fixe également le Soudan III et réduit l'acide osmique, de sorte qu'il est bien délicat de conclure sur la véritable nature chimique de cette masse qui présente certains caractères des graisses et d'autres de la métachromatine.

II. — LA REPRODUCTION ASEXUELLE.

Les conidies de ce champignon forment des zoospores, d'après De Bary, lorsqu'on les sème dans une goutte d'eau ; elles s'imbibent rapidement d'eau et gonflent ; une papille obtuse se développe, et dans le cytoplasme finement granuleux, se forment des vacuoles qui disparaissent ensuite ; simultanément on voit le cytoplasme se fragmenter en 5 ou 8 portions polyédriques, renfermant chacune au centre une petite vacuole faiblement colorée.

Quelques minutes après la fragmentation, la papille gonfle, s'ouvre et les zoospores sont expulsées une à une par l'orifice sans donner aucun signe de mouvement. Ces zoospores prennent une forme lenticulaire, et se groupent devant l'orifice de la conidie en formant une masse globuleuse, bientôt elles commencent à se mettre en mouvement, les cils vibratiles deviennent visibles, et la masse tout entière se met à osciller. Finalement les zoospores se libèrent dans le liquide. Elles

ont pris la forme d'une lentille plan-convexe ou légèrement concave-convexe ; sous la surface plane ou concave, on trouve une vacuole discoïdale et les deux cils sont insérés au bord de cette vacuole ; le plus court en avant, le plus long en arrière et tous les deux du même côté. Chaque conidie donne de 5 à 8 zoospores chez ce champignon.

D'après L. R. Tulasne, chez *C. candidus*, les conidies sont presque toujours semblables et de forme cubique, mais quelquefois, on distingue des conidies qui sont plus grosses avec une forme tétraédrique. Le dimorphisme qui est très évident chez *C. Porulacae*, est aussi présent, à un degré moindre chez *C. candidus*.

Bürgen [4] a donné une intéressante description de la formation des zoospores dans la conidie : une heure à une heure et demie après la mise en liberté des conidies dans l'eau, ces dernières prennent la forme d'un flacon ; des vacuoles de différentes grandeurs apparaissent ; entre ces vacuoles, des granules foncés s'arrangent selon des lignes plus ou moins régulières. Le cytoplasme se rétracte et se sépare du col de la conidie et des autres parties de la membrane, en laissant ainsi un espace clair rempli d'une substance fortement réfringente. Les vacuoles s'unissent et finalement disparaissent. Le cytoplasme se gonfle de nouveau, et se divise en zoospores par des lignes de granules qui se convertissent bientôt en membranes cellulaires continues. Chacune de ces zoospores contient une tache claire ainsi que l'a décrit De Bary.

Zalewski [38] [39] a aussi décrit la formation des conidies. Vers le sommet arrondi de la baside apparaît une gouttière qui finit par séparer une conidie par un étranglement. Juste au niveau de la constriction, apparaît une fine couche de cellulose, qui progresse vers le centre et forme enfin une cloison transversale. Quand cette membrane a atteint son épaisseur définitive, elle se divise en trois couches, dont l'une appartient à la baside et l'autre à la conidie. Ces deux couches

sont séparées par une troisième qui devient gélatineuse. Cette membrane, d'aspect gélatineux, se colore en jaune rose par l'iode et l'acide sulfurique, tandis que la membrane de la conidie et celle de la baside se colorent en bleu. Cette gelée se gonfle d'abord pendant l'individualisation de la conidie. Puis elle se résorbe graduellement quand la conidie se développe, sauf une mince couche qui persiste entre les conidies et les relie entre elles. Cette gelée se dissout entièrement dans l'eau et les conidies se libèrent. Cette gelée est aussi capable d'absorber l'humidité de l'air. C'est ainsi que l'humidité de l'air suffit à libérer les conidies.

M. P. A. Dangeard [5] a vu autrefois que dans le mycélium, les noyaux sont en général assez espacés. Les conidies renferment un cytoplasme hyalin de 5 à 7 noyaux, c'est-à-dire qu'il y aura autant de zoospores. Il semble que tous ces noyaux proviennent du mycélium et qu'il n'y a pas de division dans la baside. Après avoir fourni un certain nombre de conidies, le filament claviforme s'épaissit et n'en produit pas de nouvelles ; la membrane est assez épaisse et le cytoplasme renferme deux à quatre noyaux.

Mangin [21] a décrit la désarticulation des conidies chez *C. candidus*. Quand une conidie est sur le point de se former, un anneau mince de callose apparaît près du sommet de la baside. Cet anneau s'épanouit graduellement à l'intérieur jusqu'à ce qu'une cloison transversale se soit complètement formée ; cette cloison a une forme conique ou convexe, sa concavité étant tournée vers la conidie. La membrane cellulosique en contact au bord avec cette cloison transversale se résorbe et une sorte de constriction se produit par épaissement de la cloison de callose. Ceci se fait rapidement, et finalement la callose forme une sorte de coupe à la base de la conidie ; c'est par cette coupe que cette dernière est rattachée à la baside. L'auteur n'a pas pu observer la division de cette coupe en trois comme l'ont fait De Bary et Zalewski. Finalement la coupe de la callose se réduit à une

masse courte, cylindrique qui rattache la conidie à la baside ; la membrane cellulosique de la baside et de la conidie s'étend définitivement des deux côtés de la callose. La couche de callose entre la conidie et la baside acquiert peu à peu la propriété de se dissoudre dans l'eau, grâce à quoi les conidies sont mises en liberté.

D'après Wager, les hyphes ont des dimensions et une forme irrégulières en contour, suivant la forme des espaces intercellulaires, au travers desquels ils circulent et se ramifient fréquemment. La dichotomie est très irrégulière, dépendant de la présence des espaces intercellulaires, et parfois, quand un filament atteint un espace intercellulaire plus large que la normale, il grossit considérablement et produit des ramifications rayonnant dans toutes les directions. Le cytoplasme de l'hyphe est granuleux et très vacuolaire. Quelquefois, le cytoplasme est très peu abondant, et forme juste une mince couche sur la contre-membrane de l'hyphe avec quelques trabécules transversaux. Par contre, il est parfois très dense et remplit complètement l'hyphe. C'est ce qui a lieu là où se produira sans doute une croissance active dans les portions basidiogènes du mycélium. Les suçoirs sont de petites saillies sphériques qu'on rencontre çà et là sur l'hyphe, parfois en nombre considérable. Ils indiquent souvent la présence du mycélium, avant qu'on ait pu observer ce dernier proprement dit et il est souvent très difficile de voir leur relation avec l'hyphe, sur lequel ils sont nés, à cause de la petite taille du tube de communication. Généralement, le cytoplasme du suçoir est très dense et fortement coloré ; il remplit presque complètement la cavité ; dans d'autres cas, il forme une couche pariétale de granules fortement chromophiles autour d'une vacuole centrale. Le cytoplasme de ces suçoirs se montre généralement un peu rétracté dans des coupes colorées.

Les noyaux du mycélium sont régulièrement répartis et espacés dans le cytoplasme, mais là où le cytoplasme est

abondant et où probablement aura lieu une croissance active, les noyaux sont plus nombreux. Dans le premier cas, la structure des noyaux peut être facilement observée, mais non dans le deuxième cas. Chaque noyau quiescent comporte une membrane nucléaire, un réseau chromatique et un nucléole. Le réseau nucléaire paraît être distinctement granuleux. L'auteur n'a jamais pu clairement observer la division nucléaire dans le mycélium bien qu'il ait souvent observé des aspects analogues à des figures de mitose.

Les conidiophores d'après Wager se produisent sur la baside en grand nombre, juste au-dessus de l'épiderme de la tige, de la feuille ou du fruit. Le cytoplasme et des noyaux passent du mycélium dans la baside. Le mycélium se ramifie beaucoup ; il est abondant dans la région où les basides sont nées ; la membrane cellulaire surtout dans les stades ultérieurs est très épaisse, et se colore facilement par l'hématoxyline. Dans la baside, il n'existe pas de fusion de noyaux. Chez *Cystopus*, 5 à 8 noyaux et une fraction de cytoplasme s'accumulent au sommet de la baside, puis une cloison transversale forme la conidie, comme l'ont montré Zalewski et Mangin. Ces noyaux restent indivis et chacun d'entre eux devient le noyau d'une zoospore. Chaque noyau est entouré dès le début, par une masse de cytoplasme dense et granuleux qui en atténue beaucoup la visibilité, car ces granules cytoplasmiques sont fortement chromophiles. Ces noyaux possèdent une membrane nucléaire, un nucléole et un réseau nucléaire. Ils sont peut-être un peu plus gros et plus distincts que ceux du mycélium.

Les recherches si complètes de divers savants sur les organes de la reproduction asexuelle et le mycélium que nous venons d'exposer limitaient notre tâche ; nous nous sommes donc borné à signaler dans ces organes les caractères du cytome, formation qui n'avait jamais encore été décrite chez les Péronosporées.

Le mycélium du parasite est très ramifié, exclusivement

localisé dans les méats intercellulaires. Ce mycélium change de taille au gré des espaces intercellulaires où il circule. Parfois, on trouve des mycéliums très élargis et très ramifiés où le cytoplasme est réticulé avec de nombreux noyaux dans les mailles. Au contraire, on trouve aussi des mycéliums très minces dans lesquels le cytoplasme est pariétal avec quelques noyaux bien espacés et à peine visibles. Les mycéliums dont la croissance est très active, se trouvent généralement dans des endroits où les basides sont nées.

Dans les filaments mycéliens, en dehors des noyaux, on trouve de nombreux cytosomes ; ils sont sphériques, relativement gros et fortement chromatiques. Si le cytoplasme forme un réseau, ce qui est le cas ordinaire, ces sphérules sont situés dans les mailles, isolés ou groupés en chaînettes ; quand le cytoplasme est dense, les cytosomes se rassemblent en amas irréguliers.

La forme sphérique est la forme normale. Lorsqu'on rencontre des aspects en bâtonnets courts, ceux-ci représentent soit un stade de division, soit une simple déformation ; la chromatine peut disparaître des cytosomes et il n'en reste plus alors qu'une mince couche limitant la sphère.

Le mycélium se met en communication avec les cellules par des sortes d'ampoules ou suçoirs très petits. Sur une coupe mince, on trouve beaucoup de ces suçoirs dans les cellules, mais peu de mycélium. Cela confirme ce qu'a dit Wager « Les suçoirs indiquent souvent la présence du mycélium avant que celui-ci ait été observé ». Il est très difficile de bien établir leur relation avec le mycélium, à cause de la petitesse du tube de communication qui n'est pas facile à observer sur une coupe mince. La membrane de ces suçoirs est parfois très épaisse. Wager ne croit pas qu'il s'agit ici d'une véritable membrane, mais tout simplement d'un écartement du cytoplasme de la membrane tout autour. Le cytoplasme de ces suçoirs est parfois très dense ; on y trouve des cytosomes sphériques, fortement colorés, 5 à 8 environ,

mais pas de noyau ; on trouve une vacuole au centre de ces ampoules.

La reproduction asexuelle se fait au moyen de nombreuses conidies produites en chaînettes par des conidiophores courts, serrés les uns contre les autres. Les conidies sont sphériques ; elles renferment un cytoplasme hyalin, dans lequel il est facile de mettre en évidence les noyaux, au nombre de 5 à 7, c'est-à-dire en nombre égal à celui des zoospores que fournira la conidie. Tous ces noyaux viennent du mycélium et il n'y a pas de division lors de la formation de la conidie au sommet du filament claviforme. Il n'y a pas non plus de fusion dans les cellules basilaires, ce qui a été établi par beaucoup d'auteurs, notamment par Wager. Après avoir fourni un certain nombre de conidies le filament claviforme s'épuise, et il reste sans en produire de nouvelles ; sa membrane est assez épaisse et son cytoplasme ne renferme que deux à quatre noyaux. On rencontre des coussinets qui sont uniquement formés de ces filaments claviformes à l'état de repos.

Les conidies renferment de nombreux cytosomes dans un cytoplasme dense creusé de petites vacuoles ; leur forme est toujours sphérique. Ces conidies sont destinées à former des zoospores et l'on observe un groupement très caractéristique des sphérules chromatiques ; les cytosomes se disposent en cercle très régulier autour de chaque noyau, au nombre d'une vingtaine ou davantage ; il se produit ainsi une répartition des cytosomes de la conidie entre toutes les zoospores. Cette disposition se retrouve dans les zoospores devenues libres et elle ne se modifie guère qu'au moment de leur germination en filament.

On peut donc affirmer que, dans la reproduction asexuelle, les cytosomes sont transmis aux zoospores par le mycélium, au même titre que les noyaux ; leur ensemble constitue, dans chaque zoospore, une forte réserve de chromatine.

2° Le *CYSTOPUS BLITI* (Pl. 6-8)

La description de cette espèce, donnée en 1899 par Stevens [30] est des plus complètes en ce qui concerne la structure des noyaux et la façon dont ils se comportent dans les organes reproducteurs ; aussi nos observations ne font-elles que confirmer le plus souvent sur ce point les résultats obtenus par ce savant, résultats devenus depuis longtemps classiques.

Cependant, au cours de nos recherches de vérification, il s'est trouvé qu'il y avait lieu de modifier certaines interprétations et de compléter aussi toute une partie du développement ; nous voulons parler de deux formations importantes du cytoplasme, d'une part le cytome dont l'existence était totalement inconnue, à l'époque où Stevens écrivait son travail et d'autre part le vacuome, sur lequel on n'avait que des données incomplètes et inexactes.

Ce champignon attaque *Amarantus Blitum*. Au mois de juin ou juillet, on voit sur les feuilles, rarement sur les tiges de cette plante, des taches blanches qui semblent des gouttes de chaux ; ce sont surtout des conidiophores. Plus tard, au mois de septembre et octobre, on voit apparaître, tout autour de ces taches blanches, des zones bleuâtres. Dans ces zones bleuâtres, on voit une quantité de grains dispersés ; si on les examine par transparence, on constate que ce sont des œufs.

Nous avons recueilli nos échantillons, à plusieurs reprises, dans les environs de Massy-Verrières, au bord de champs de navets.

A. *Formation du jeune oogone et de l'anthéridie.*

La formation du jeune oogone et de l'anthéridie a lieu, chez toutes les espèces de la famille de Péronosporées, par l'élargissement du mycélium. La différence entre le mycé-

lium large, qui est assez fréquent chez cette espèce, et le mycélium qui va donner naissance aux gamétanges est très facile à établir. Dans ce dernier cas, les noyaux sont étirés, les vacuoles anguleuses ; le cytoplasme présente des stries dues à un écoulement et le contenu se colore fortement. Lorsque le jeune oogone est bien plein de cytoplasme, (avec noyaux et cytosomes) venant du mycélium, il se sépare d'avec ce dernier par une cloison. Les noyaux dans le jeune oogone recouvrent leur forme normale et se distribuent dans le cytoplasme vacuolaire.

La jeune anthéridie se développe en même temps que l'oogone ; à cause de sa petite dimension, les transformations constatées dans le jeune oogone ne peuvent être décelées dans cette jeune anthéridie ; lorsqu'elle est bien formée, elle se sépare aussi par une cloison du mycélium maternel.

Aussitôt que les noyaux dans le jeune oogone ont repris leur forme normale, ils se mettent à augmenter de volume. Dans ces noyaux, on voit des granules distribuées dans les mailles du réseau. Parmi ces granules, on distingue facilement les nucléoles qui sont colorés en rouge, tandis que les autres granules sont colorées en violet par la triple coloration de Flemming. On peut dire que les noyaux de ce stade se préparent à la mitose. A ce moment, la membrane de l'oogone s'épaissit un peu.

Si on veut compter le nombre des noyaux qui se trouvent dans le jeune oogone et l'anthéridie, c'est le moment le plus propice. Nous en avons trouvé environ 200 dans le jeune oogone, et environ 20-30 dans la jeune anthéridie. Ces chiffres sont loin d'être rigoureux, car il faut tenir compte de la dimension des oogones et de celle des anthéridies qui peuvent quelquefois varier beaucoup.

Chez cette espèce, comme chez les autres espèces de Péronosporées, c'est toujours le jeune oogone qui envoie une sorte de hernie à l'anthéridie, avant que cette dernière lui envoie son tube fécondateur. Tout d'abord, on voit le cyto-

plasme dans le jeune oogone s'écarter un peu partout de sa membrane, sauf en face de l'anthéridie, point où se forme une masse épaisse et fortement colorable, de cytoplasme granuleux, qui marque le commencement de la formation de la papille. Wager a cru que cette masse sécrétait une enzyme destinée à dissoudre la membrane de l'oogone ; il a donné aussi le nom de « receptive papilla » à cette hernie. La membrane de cette papille est assez mince. On ne sait pas si cette membrane se déchire et abandonne son contenu à l'anthéridie, ou si ce contenu retourne au contraire dans l'oogone. Cette dernière hypothèse nous semble plus probable. En tout cas, on ne trouve plus cette papille aux stades suivants. Peu après, on voit que l'anthéridie commence à former son tube fécondateur pour l'envoyer à l'oogone. Au commencement de la formation du tube, nul noyau de l'anthéridie n'y pénètre encore. Le tube est fortement colorable, avec du cytoplasme très dense (fig. 1, planche VI). Tous les noyaux de l'anthéridie sont à peu près semblables à ceux de l'oogone.

B. Différenciation de l'oosphère multinucléée.

Lorsque le tube a commencé à pénétrer dans l'oogone, la différenciation de l'oosphère à nombreux noyaux a lieu. Stevens a donné une description très détaillée de la façon dont l'oosphère rudimentaire se forme ; nous ne donnons ici qu'un résumé qui correspond d'ailleurs parfaitement à ce qu'a trouvé Stevens.

Cette opération consiste en un mouvement centrifuge du cytoplasme, entraînant les noyaux et les vacuoles. Tout d'abord, on voit le cytoplasme dans l'oogone s'accumuler en masses, que des vacuoles de différentes grandeurs séparent les unes des autres et en même temps de la membrane. Dans ces masses, formées de petites mailles à peine visibles, on remarque des granules assez nombreux, contrairement à ce

qu'a trouvé Stevens, qui nie leur existence. Les noyaux se trouvent généralement à la périphérie de ces masses (fig. 1, planche VI). Puis, ces masses cytoplasmiques se réunissent pour former des masses plus grandes, en expulsant en même temps les noyaux et les vacuoles vers l'extérieur. Peu après, ces grosses masses se fusionnent à leur tour, de sorte qu'à la fin, on ne trouve qu'un réticulum au centre, c'est l'oosphère jeune. Cette oosphère à ce stade consiste en une masse épaisse, presque homogène avec de toutes petites vacuoles uniformes ; lorsqu'elle est bien formée, elle est à peu près arrondie (fig. 3, planche VIII). Les noyaux expulsés se trouvent dans une zone lâche située entre l'oosphère qui vient de se former et les vacuoles expulsées qui forment le périplasme. Ces noyaux s'entourent de cytoplasme, de sorte que, bientôt l'ooplasme et le périplasme se touchent et se mélangent un peu ; il n'y a alors entre eux qu'une ligne de démarcation vague, la membrane primitive n'étant pas encore formée. Ce stade est appelé par Stevens, le stade de « zonation ».

Quand l'oosphère est bien formée, il ne reste plus du tout de noyaux dans l'ooplasme. Tous ces noyaux se groupent en cercle autour de l'oosphère (fig. 5, planche VIII). Ils sont à l'état de division, en général en métaphase au stade de différenciation de l'oosphère. D'après Stevens, la plupart de ces fuseaux sont généralement croisés avec la ligne de démarcation : l'un de leurs pôles se trouvant dans l'ooplasme et l'autre dans le périplasme. C'est ainsi qu'à la fin de la mitose, un noyau fils ira à l'ooplasme, l'autre restant dans le périplasme.

En se basant sur le nombre de fuseaux qui se trouvent dans cette position, on peut évaluer approximativement le nombre de noyaux fils qui rentreront dans l'oosphère. Stevens en a indiqué de 45 à 55. Nous en avons trouvé une trentaine environ dans une oosphère. Cette oosphère multinucléée est appelée par Stevens « compound oosphère ».

Après l'entrée des noyaux fils dans l'oosphère, la différenciation de cette dernière est complète. L'ooplasme ne se modifie pas ; il est formé par de toutes petites mailles uniformes qui dépassent à peine, en diamètre, la moitié de celui d'un noyau. Le périplasme est toujours vacuolaire, ses trabécules sont granuleux, avec des noyaux groupés dans les intersections de ces derniers.

Les noyaux de l'anthéridie se divisent en même temps que ceux de l'oogone ; on ne peut pas relever de différence entre ces deux sortes de mitoses. Au stade de différenciation de l'oosphère, le tube fécondateur a pénétré dans le périplasme jusqu'à la ligne de démarcation ; son contenu est alors fortement coloré, de sorte qu'on ne peut rien y distinguer. Ce n'est que plus tard, quand il pénètre dans l'oosphère, en endommageant un peu la ligne de démarcation, qu'on peut voir des noyaux dans son contenu.

Au cours de la différenciation de l'oosphère, il apparaît au centre une masse irrégulière, épaisse, fortement colorable, entourée de zones de cytoplasme colorées diversement, mais faiblement. C'est ce qu'on appelle généralement le coenocentre (fig. 3, planche VII). Chmielewsky l'avait pris tout d'abord pour un noyau ; Dangeard a montré autrefois que ce n'est pas un noyau ; Wager l'a pris pour un corps cytoplasmique attirant les noyaux sexuels ; Stevens a cru que c'était un organisateur de l'oosphère qui serait formé par plusieurs corps jaunes qui se trouvaient précédemment dans l'oogone. L'opinion de Wager est bien applicable au *C. candidus*, *C. Tragopogonis*, *Peronospora effusa*, et *P. parasitica*, car chez ces espèces, il n'y a qu'une paire de noyaux sexuels que le coenocentre peut attirer, tandis que, chez *C. Bliti*, on compte de nombreuses paires de noyaux de fusion ; toutes ces paires n'arrivent pas jusqu'au coenocentre, ce qui semblerait indiquer que ce dernier n'exerce ici sur les noyaux, qu'une attraction très minime, peut-être même nulle. D'ailleurs le coenocentre de *C. Bliti*, comme de *C. Portulacae*, est

beaucoup moins développé que chez les espèces que nous avons énumérées plus haut. Stevens était sans doute dans l'erreur en croyant que ce coenocentre est formé par les corps jaunes, car il n'a pas du tout la même coloration que ces derniers. Néanmoins, on trouve quelquefois de petits granules dans le coenocentre, notamment, chez *Cystopus candidus*. D'après toutes ces données et malgré les recherches que nous avons entreprises, il est vraiment difficile de se prononcer ; tout ce que l'on peut dire, c'est que le coenocentre est peut-être une agglomération de toutes petites granulations de nature inconnue qui sont plus ou moins pourvues de pouvoir d'attraction suivant les espèces. Puisqu'il existe dans presque toutes les espèces de Péronosporées, il joue certainement un rôle assez important.

Chez cette espèce, ce coenocentre apparaît au moment de la différenciation de l'oosphère ; il arrive au maximum de développement au moment où les noyaux fils issus de la première mitose rentrent dans l'oosphère et il disparaît immédiatement avant la fécondation, mais quelquefois, cependant, il persiste après elle.

C. Mitoses simultanées dans l'oogone et l'anthéridie.

Tous les noyaux qui se trouvent dans l'oogone se divisent en même temps. Au stade où les noyaux s'arrangent autour de l'oosphère rudimentaire, on les trouve généralement en métaphase, alors que, au commencement de la différenciation de l'oosphère, ils sont en prophase.

Les anaphases n'arrivent qu'au moment où la différenciation de l'oosphère est presque achevée. Ce ne sont pas là des règles absolues et les mitoses peuvent se produire, soit un peu en avance, soit au contraire en retard, mais, en tout cas, tous les noyaux sont presque au même stade à un moment donné.

En ce qui concerne la mitose, nous ne ferons que confirmer

ce qui a été trouvé par Stevens, qui a fait une étude très détaillée de la question.

Prophase. — La division nucléaire commence par l'allongement des noyaux et l'agglomération de la chromatine en petits granules irréguliers qui sont distribués dans le réseau de linine. Les nucléoles qui sont colorés en rouge par la triple coloration de Flemming, restent très nets à ce stade. Aux deux extrémités du noyau, on voit apparaître deux corps arrondis qui sont également colorés en rouge par la triple coloration de Flemming ; ce sont des centrosomes. Au fur et à mesure que les granules chromatiques se fusionnent pour donner un petit nombre de chromosomes, ces derniers s'organisent, se perfectionnent, puis se rassemblent au centre du noyau. A ce moment, les mailles du réseau commencent à disparaître ; on voit apparaître aux deux extrémités du noyau, des fibres rayonnant vers le centre ; c'est le fuseau qui commence à se former.

Métaphase. — Quand les chromosomes se rassemblent au centre du noyau, ils se mêlent et forment une sorte de plaque équatoriale. A ce moment, nous ne pouvons préciser la manière dont s'effectue la division, à cause de la petitesse des chromosomes. Entre la membrane nucléaire qui reste toujours intacte et le fuseau, il existe toujours un espace hyalin, dans lequel on distingue souvent un corps sphérique qui, par sa coloration et sa forme, s'identifie comme un nucléole. A cause de la persistance de la membrane nucléaire, la radiation extra-nucléaire n'existe pas chez cette espèce. Les deux centrosomes qui arrivent à leur maximum de développement à ce stade sont nets et bien réguliers aux deux pôles du fuseau. Les fibres du fuseau sont souvent bien régulières ; elles peuvent être allongées ou raccourcies suivant le milieu où elles se trouvent ; elles sont allongées dans les trabécules lâches, elles sont au contraire raccourcies dans les trabécules serrés.

Anaphase. — Quand les chromosomes ont fini leur divi-

sion, ils sont au nombre de 12 environ ; ils se divisent en deux groupes ; chaque groupe va vers un pôle avec une vitesse variable. A ce moment les deux pôles du fuseau perdent leur netteté.

Lorsque ces chromosomes arrivent aux pôles, ils se mêlent avec le centrosome ; ils sont beaucoup plus chromophiles qu'auparavant. Généralement le nucléole qui se trouve dans l'espace hyalin, se divise en deux ; chacune des moitiés s'achemine vers un pôle en même temps que les chromosomes. A ce stade, la membrane nucléaire commence à disparaître et les fibres fusoriales deviennent moins nettes à l'équateur, puis se brisent à nouveau, les deux groupes de chromosomes s'écartent un peu. Lorsque les chromosomes sont intimement mêlés, il apparaît tout autour une nouvelle membrane, le noyau fils s'arrondit, il est définitivement formé. D'après Stevens, la chromatine du noyau fils forme une sorte de croissant qui se trouve d'un côté du noyau. Le centrosome ne peut plus être distingué parmi les nombreux granules chromatiques, mais, par contre, les nucléoles restent très nets.

D. Maturation de l'oosphère et de l'anthéridie.

Les noyaux fils qui rentrent dans l'oosphère sont au nombre d'environ une trentaine. Après leur réorganisation, on voit nettement une membrane nucléaire, un nucléole et un réseau chromatique coloré faiblement dans chacun d'eux. Peu après, on voit que ces noyaux changent d'apparence ; ils augmentent de volume ; c'est la deuxième mitose qui commence. La deuxième mitose n'affecte que les noyaux qui sont dans l'oosphère.

En examinant attentivement, on s'aperçoit que la deuxième mitose diffère très peu de la première, sauf une coloration plus faible, une diminution de chromatine et un fuseau plus allongé, surtout dans l'anaphase et la télophase. Quand

les noyaux de l'oosphère ont terminé leur deuxième division, leurs noyaux fils passent à l'état de repos. Ils sont prêts pour la fécondation.

Nous avons dit plus haut que les noyaux de l'anthéridie se divisent en même temps que ceux de l'oogone ; plus tard, ils subissent encore une fois une division en même temps que ceux de l'oosphère. Au commencement de la formation de l'anthéridie, nous avons trouvé plus d'une trentaine de noyaux ; après les divisions, il y en a au moins cent vingt. Il n'y a guère de différence entre la mitose de l'anthéridie et celle de l'oosphère.

Le tube fécondateur pénètre dans le périplasme lorsque la différenciation de l'oosphère a commencé ; il atteint la ligne de démarcation lorsque la différenciation est presque terminée ; à ce stade, c'est-à-dire pendant la deuxième mitose, il commence à pénétrer dans l'oosphère, endommageant un peu la ligne de démarcation. Au fur et à mesure qu'il avance, il augmente de diamètre (fig. 1, 2, planche VI). Lorsqu'il arrive près du centre de l'oosphère, après la deuxième mitose, son extrémité se gonfle et devient sub-globulaire en même temps que la membrane s'amincit (fig. 4, planche VII). La membrane à la base de ce tube est très épaisse, ce qui réduit beaucoup la lumière du tube. A cause de l'étroitesse du diamètre à la base, les noyaux mâles entrent dans le tube un à un, à la file, mais lorsqu'ils arrivent au voisinage de l'extrémité, ils forment plusieurs files et sont très serrés (fig. 5, planche VII). Il est très difficile de compter les noyaux dans le tube, car il est fortement coloré. Stevens en a fixé le chiffre à une centaine. Si l'on en juge par le nombre de noyaux qui restent dans l'anthéridie (une quinzaine environ) il serait plus exact de dire 80-100.

Au moment où les noyaux mâles commencent à pénétrer dans le tube, ils ont une forme normale, mais lorsqu'ils arrivent à l'extrémité du tube, serrés les uns contre les autres, ils changent de forme et deviennent pointus aux deux bouts.

C'est dans leurs extrémités antérieures que se trouvent les nucléoles entourés par de la chromatine, au fur et à mesure que le tube fécondateur s'élargit, l'anthéridie devient de plus en plus vacuolaire. Mais le cytoplasme ne quitte jamais entièrement cet organe.

E. Fécondation.

Dans l'oosphère, le nombre des noyaux femelles résultant de la deuxième division varie entre 80 et 100 ; c'est presque le même chiffre que celui des noyaux mâles contenus dans le tube fécondateur. A ce moment, tout est prêt pour la fécondation. La membrane de l'extrémité du tube fécondateur étant extrêmement mince, se déchire très facilement. Aussitôt qu'elle a disparu, son contenu est libéré dans l'oosphère. Le tube apporte, en dehors de nombreux noyaux mâles, du cytoplasme mâle. C'est ainsi qu'on peut voir, au centre de l'oosphère, une masse cytoplasmique très colorable, pleine de noyaux. Après leur libération, ces noyaux mâles se mettent en mouvement et vont rejoindre les noyaux femelles (fig. 1, planche VII). Dans leur mouvement, ils traînent derrière eux une queue de cytoplasme. Ils sont un peu allongés et dans leurs extrémités antérieures, on distingue encore le nucléole et un peu de chromatine.

Lorsque le noyau mâle s'approche du noyau femelle, on voit apparaître dans le premier, un réseau de linine très faible. Des deux noyaux sexuels en contact, c'est toujours le mâle qui est le plus petit, mais il augmente de volume, de sorte qu'à la fin, les deux noyaux sont à peu près égaux. Bientôt, à leur point de contact, la membrane disparaît, c'est la fusion qui commence. Tout d'abord, les deux noyaux en fusion prennent la forme d'un haltère, puis quand la fusion s'avance, ils deviennent sphériques (fig. 1, 6, planche VII). Dans une seule coupe, on peut trouver de nombreuses paires de noyaux aux différents stades de fusion. Dans une oos-

phère tout entière, leur nombre peut atteindre jusqu'à 100, il y a toujours dans l'oosphère un petit excès de noyaux mâles ; à la base du tube fécondateur, il en reste aussi quelques-uns. Nous ne savons pas, s'il y a fusion de nucléoles ; mais, comme à la fin de la fusion, on ne trouve qu'un seul nucléole (quelquefois deux) dans le noyau à l'état de repos, il y a toutes raisons de croire que cette opération a lieu. Aussitôt que la fusion est achevée, les noyaux passent à l'état de repos. Si l'on en juge par la variété des stades de fusion qui se trouvent sur la même coupe, on peut penser que la fusion s'effectue lentement. La fusion des noyaux a toujours lieu à l'état de repos. Le tube fécondateur, après la libération de son contenu, disparaît complètement dans l'oosphère. Ce n'est que dans le périplasme qu'on en trouve des traces, qui seront peut-être incorporées à la membrane qui va se former. Après la fusion des noyaux, l'ooplasme change d'aspect ; au lieu d'un fin réticulum, il y a de grosses vacuoles. A ce stade, une véritable membrane se forme autour de l'oosphère, au lieu d'une simple démarcation, comme auparavant. Avant la formation de cette membrane, il se produit un vide séparant l'ooplasme du périplasme, c'est dans cet espace libre que la membrane se forme. Cette membrane « primitive » se forme au dépens du périplasme et de l'ooplasme ; elle est homogène, claire, sans striations, régulière en courbure et en épaisseur (fig. 2, planche VI).

F. *Maturation de l'oospore.*

La maturation de l'oospore consiste en la formation de l'exospore et de l'endospore. Stevens a distingué dans cette formation 3 périodes. La première période consiste en la formation partielle de l'exospore, la seconde en l'achèvement de l'exospore et la formation de la première couche de l'endospore ; la troisième est la formation de la deuxième couche de l'endospore. Cette division en périodes paraissant très

exacte, nous les suivrons dans notre description. Avant la formation de ces membranes, nous avons constaté, comme d'ailleurs Stevens, que, dans les vacuoles de l'ooplasme, il se forme des masses irrégulières de matières gélatineuses colorées en bleu par la triple coloration de Flemming. Ces masses se trouvent généralement à la périphérie de l'oosphère et les noyaux se retirent vers le centre de cette dernière. Ces masses, d'après Stevens, ont une importance capitale pour la formation de l'endospore.

A ce moment, les trabécules de l'ooplasme s'épaississent un peu, tandis que le périplasme ne change pas.

Première période. — Formation partielle de l'exospore. Tout d'abord, à l'intérieur de la membrane primitive, se forme une couche de substance semi-transparente, traversée par de nombreux canalicules droits, serrés les uns contre les autres. C'est ce que Wager appelle la « columnar condition ». A côté de cette couche ainsi striée, on trouve dans la même substance semi-transparente des masses courbées de substance noire de nature inconnue qui prennent la forme de soucoupes ; ces masses s'étendent latéralement, se touchent et rebroussement. C'est ainsi que les côtés du réseau de la coque se forment.

Deuxième période. — Achèvement de l'exospore et formation de la première couche de l'endospore. Cette première couche de l'endospore s'est formée à l'intérieur de la membrane primitive, donc aux dépens de l'ooplasme. Au commencement de la formation de ces membranes, nous avons déjà signalé l'apparition de masses gélatineuses bleues à la périphérie de l'oosphère. Aussitôt que la deuxième couche de l'endospore est achevée, ces masses disparaissent complètement de l'oosphère, ce qui nous fait penser à leur attribuer un rôle dans la formation des deux couches de l'endospore. D'ailleurs, il faut remarquer que, lorsque l'endospore est tout à fait jeune, elle se colore de la même teinte que ces masses gélatineuses. Ce n'est que plus tard qu'il change de couleur.

Troisième période. — Formation de la deuxième couche de l'endospore. Cette deuxième couche se forme à l'intérieur de la première. Il est vraiment difficile de distinguer ces deux couches de même nature, mais, on peut remarquer quelquefois la coupure entre les deux, qui est très nette. En tout cas, ces deux couches de l'endospore sont des membranes homogènes, transparentes, régulières en épaisseur et en courbure.

Au cours de la formation de ces membranes, de nombreux globules se forment au centre de l'oosphère. Ces globules vont se fusionner entre eux en donnant un gros globule central, qui repose sur un substratum qui se colore différemment (fig. 4, planche VIII). Dans ce globule, on constate la présence de corps réfringents qui sont peut-être des cristaux. Quant au globule lui-même, il est constitué par une agglomération de corpuscules métachromatiques reposant dans une grosse vacuole centrale. Les nombreux noyaux : 80-100 environ, sont distribués pêle-mêle dans la couche pariétale de l'ooplasme. Ils sont à l'état de repos. L'ooplasme, à ce stade, est finement vacuolaire et granuleux.

G. Cytome et Vacuome.

Chez *C. Bliti*, au cours de la formation de l'œuf, Stevens [29] a trouvé trois sortes de substances qui se présentent sous la forme de globules sphériques oléagineux. Il ne croit pas que ce soient de véritables graisses parce qu'elles ne répondent pas aux réactions microchimiques des graisses, (*loc. cit.*, p. 228). D'après lui, la première sorte de pseudo-graisse est très répandue dans le jeune oogone, dans l'oosphère et dans le cytoplasme de l'oospore ; elle se présente sous la forme de petits globules plus gros là où les mailles de périplasme sont plus larges, plus petits là où les mailles de l'ooplasme sont plus fines. La deuxième sorte de pseudo-graisses se présente en très petite quantité sous forme de

8 à 10 globules dans le jeune oogone ; ces globules n'ont pas la même coloration que ceux de la première catégorie mais, par contre, ils ont la même coloration que le coenocentre. La troisième sorte de graisses se trouve dans l'oospore mûre où elle se présente sous forme de globules d'une couleur jaune clair qui, en se fusionnant forment le globule central irrégulier (substance de réserve ?).

Parmi les auteurs qui ont étudié cytologiquement les Péro-nosporées, Stevens est peut-être le seul qui a émis des doutes sur la nature de ces formations que beaucoup d'auteurs ont confondues sous la désignation de graisses.

En réalité, nous pouvons actuellement, en nous aidant des nouvelles conceptions de P. A. Dangeard sur le vacuome, établir une classification normale dans ces pseudo-graisses. La première catégorie qui est formée de gouttelettes de teinte brune ou noire dans les matériaux fixés au Flemming, ce qui est dû à l'action de l'acide osmique, doit être, sans aucun doute, rangée dans la catégorie de ces « corpuscules oléagineux » nés dans le cytoplasme qui sont si abondants dans la plupart des champignons.

La troisième catégorie de *globules* répond aux corpuscules métachromatiques, nés par précipitation de la solution colloïdale des vacuoles ; ce sont donc des endochromidies et le gros globule chromatique qui existe dans la grande vacuole centrale de l'oospore mûre n'est lui-même qu'une endochromidie.

Quant à la troisième sorte de substance grasse distinguée par Stevens et dont les rares corpuscules se colorent en noir par l'hématoxyline, il est impossible de l'identifier d'une façon certaine ; on pourrait cependant penser à quelques éléments du cytome, formation inconnue de Stevens et de ses successeurs.

Voici maintenant quelques précisions sur le cytome et sur le vacuome :

1^o *Stade de la jeune anthéridie et du jeune oogone.* — Le

jeune oogone renferme un cytoplasme à grandes vacuoles arrondies ; les cytosomes y sont très apparents, mais assez peu nombreux tout d'abord. Plus tard, l'oogone ayant augmenté considérablement de volume, et son cytoplasme étant devenu réticulé avec mailles assez larges ; le nombre des cytosomes augmente jusqu'à atteindre sur une seule coupe le chiffre de plusieurs centaines (fig. 2, planche VII). Ces cytosomes sont ordinairement sphériques et ont tous la même grosseur. Nous avons parfois trouvé dans le jeune oogone des aspects en bâtonnets placés suivant les trabécules du cytoplasme et des aspects où les cytosomes sphériques sont appariés ; ces derniers représentent certainement des stades de division. Des corpuscules métachromatiques ou endochromidies existent à l'intérieur des vacuoles ; parmi ces endochromidies, il en est qui dépassent la grosseur des noyaux. Dans l'anthéridie qui s'applique sur la membrane du jeune oogone, on compte, sur une section, une cinquantaine de cytosomes sphériques ou davantage. On y rencontre quelquefois des aspects en bâtonnets courts (fig. 2, planche VII).

2^o Stade de différenciation de l'oosphère. — Nous savons que, au commencement de la différenciation de l'oosphère, il se forme des masses cytoplasmiques, irrégulières. D'après Stevens, ces masses sont homogène, mais grâce à l'emploi des techniques mitochondriales, nous avons trouvé à leur intérieur, non seulement des cytosomes sphériques, mais des aspects en bâtonnets, ce qui pourrait faire penser à l'existence d'une division à ce stade (fig. 1, planche VI).

Lors de la différenciation de l'oosphère qui précède l'acte fécondateur, on observe un partage des cytosomes de l'oogone entre le périplasma et l'ooplasme ; dans le périplasma, la structure reste largement réticulaire et les cytosomes, faciles à mettre en évidence, vont rester apparents et groupés pendant très longtemps ; dans la jeune oosphère, au contraire, le cytoplasme s'organise en un très fin réticulum : les cytosomes sont plus petits que dans le périplasma et ont

parfois l'aspect de bâtonnets ; on les distingue parfois difficilement des précipitations très fines de métachromatine du vacuome. Dans le tube fécondateur, qui commence à pénétrer dans l'oogone, et dans l'anthéridie, le cytoplasme est tellement dense et la coloration tellement forte qu'on ne peut rien distinguer (fig. 2, planche VI).

3^o *Stade de la première mitose.* — A ce stade, la zonation est presque terminée ; dans l'oosphère rudimentaire, on trouve des cytosomes sphériques et quelques aspects en bâtonnets. Ils sont beaucoup moins nombreux que les cytosomes du périplasma qui sont toujours sphériques. Dans les vacuoles du périplasma, il y a toujours des précipitations métachromatiques plus ou moins grosses suivant la taille des vacuoles (fig. 5, 3, planche VIII).

4^o *Stade de la deuxième mitose.* — A ce stade, le nombre des cytosomes dans le périplasma reste inchangé, mais les aspects en bâtonnets de l'oosphère se multiplient beaucoup. Dans l'anthéridie, on peut distinguer des cytosomes sphériques, sauf dans le tube fécondateur dont le contenu est trop fortement colorable. Pourtant, nous avons pu trouver dans une préparation où le tube fécondateur avait été coupé en travers, de nombreux cytosomes et 4 à 5 noyaux (fig. 5, planche VII). Dans une autre coupe, nous avons rencontré des cytosomes groupés en plusieurs endroits du périplasma (fig. 3, planche VI ; fig. 1, planche VII).

5^o *Stade de la fécondation.* — A ce stade, les aspects en bâtonnets disparaissent presque tous dans l'oosphère, où il ne reste que des cytosomes sphériques. Dans le périplasma, en dehors des cytosomes sphériques, il y a des précipitations métachromatiques de toutes grandeurs dans les vacuoles. Les cytosomes dans l'anthéridie sont assez nombreux, bien que beaucoup d'entre eux aient été envoyés dans le tube fécondateur (fig. 4, planche VII). Nous savons que le coenocentre s'entoure de plusieurs zones cytoplasmiques. Dans ces zones, on trouve de nombreux cytosomes sphériques (fig. 3,

planche VII) qui se dispersent dès que la disparition du coenocentre a lieu. Lorsque le tube fécondateur libère son contenu, celui-ci apporte à l'oosphère, en dehors de noyaux, et du cytoplasme, les cytosomes sphériques d'origine mâle (fig. 3, planche VI).

6° *Stade de fusion.* — A ce stade, on trouve des cytosomes sphériques et on retrouve des aspects en bâtonnets. Nombreux sont les cytosomes qui entourent les noyaux en fusion. Au centre de l'oosphère, le cytoplasme d'origine mâle qui vient d'être libéré du tube fécondateur, reste encore dense, mais on peut y trouver de nombreux cytosomes provenant de l'anthéridie. Dans le périplasme, les cytosomes sphériques sont nombreux et groupés en plusieurs endroits. C'est un phénomène que nous n'avons pu trouver chez d'autres espèces (fig. 1, planche VII).

7° *Stade de la formation des membranes de l'œuf.* — A ce stade, on ne trouve rien que des cytosomes sphériques dans la couche pariétale du cytoplasme de l'oospore; ils paraissent plus gros que ceux des stades précédents (fig. 4, planche VIII), mais sont, par contre, moins colorables; parfois, la chromatine a disparu des cytosomes, il ne reste plus alors qu'une enveloppe mince limitant la sphère.

Deux points intéressants peuvent être dégagés de cette description :

1° Chez cette espèce, les aspects en bâtonnets restent souvent dans les trabécules du cytoplasme; plusieurs représentent certainement des stades de division, car, nous avons vu souvent des stades où les bâtonnets s'étranglent au milieu, puis se divisent en deux.

2° Une autre particularité est à remarquer, c'est que les cytosomes sphériques se groupent en plusieurs endroits du périplasme. Ceci n'existe pas chez d'autres espèces.

Conidies. — On sait que les conidies des *Cystopus* sont produites en chaînettes par des conidiophores courts, serrés

les uns contre les autres ; les travaux de Mangin ont éclairci leur mode de formation.

Les grosses conidies à forme triangulaire existent chez cette espèce. Le dimorphisme qui est très évident chez *C. Portulacae* est aussi net chez *C. Bliti*. Les conidies chez cette espèce sont plus grosses en haut qu'à la base.

Le cytoplasme dans la conidie, forme des mailles qui sont plus grosses au centre et plus serrées à la périphérie ; parfois, les vacuoles se rassemblent au centre de la conidie. Il y a quatre à six noyaux. Ces noyaux sont munis d'une membrane nucléaire, d'un nucléole et d'un réseau chromatique granuleux. On ne trouve pas de division de noyaux dans la conidie, ni dans la baside, claviforme ; les noyaux sont donc transmis aux conidies par le mycélium.

Les conidies renferment de nombreux cytosomes de forme toujours sphérique. Si la conidie est destinée à fournir un filament germinatif, la disposition des cytosomes reste quelconque ; si, au contraire, cette conidie doit former des zoospores, comme c'est le cas chez cette espèce, on observe un groupement très caractéristique des sphérules chromatiques ; les cytosomes se disposent en cercle très régulièrement autour de chaque noyau, au nombre d'une vingtaine ou davantage ; il se produit ainsi une répartition des cytosomes de la conidie entre toutes les zoospores ; cette disposition se retrouve dans les zoospores devenues libres et elle ne se modifie guère qu'au moment de leur germination en filament.

On peut donc affirmer que, dans la reproduction asexuelle, les cytosomes sont transmis aux zoospores par le mycélium, au même titre que les noyaux ; leur ensemble constitue, dans chaque zoospore, une forte réserve de chromatine (Note du 25 mai 1916, Comptes rendus de l'Académie des Sciences, t. 182, page 1256).

Basides. — Les basides claviformes en pleine croissance contiennent 6 à 8 noyaux et de nombreux cytosomes sphériques,

qui sont distribués dans les mailles du cytoplasme vacuolaire. Il n'y a pas de division des noyaux ni des cytosomes dans la baside. Après avoir fourni un certain nombre de conidies, le filament claviforme s'épuise, et reste sans en produire de nouvelles ; sa membrane est assez épaisse, et son cytoplasme ne renferme plus que 2 à 4 noyaux.

Mycélium et suçoirs. — Les hyphes sont irrégulières en grandeur et leur contour est variable ; la ramification est très irrégulière aussi, et dépend de la forme des espaces intercellulaires. Le cytoplasme que renferme l'hyphe s'arrange en réseau avec des mailles nombreuses. Il est rare de trouver chez cette espèce un cytoplasme peu abondant ne formant qu'une couche mince sur la membrane de l'hyphe, comme c'est le cas chez *C. candidus*. Le mycélium qui fournit les basides est particulièrement riche en cytoplasme.

Dans le mycélium, les noyaux sont assez espacés ; ils sont munis d'une membrane, d'un nucléole et d'un réseau granuleux, comme ceux des conidies. Ils paraissent un peu plus gros que ces derniers.

C. Bliti montre de nombreux cytosomes dans ses filaments mycéliens ; ils sont sphériques, relativement petits et fortement chromatiques ; si le cytoplasme forme un réseau, ce qui est le cas ordinaire, ces sphérules sont situées sur les mailles, isolées ou bien en chaînettes ; quand le cytoplasme est dense, les cytosomes peuvent être rassemblés en amas irréguliers. La forme sphérique est la forme normale et lorsqu'on rencontre des aspects en bâtonnets courts, ceux-ci représentent, soit un stade de division soit une simple déformation par étirement ; parfois, la chromatine a disparu des cytosomes ; il ne reste plus qu'une enveloppe mince limitant la sphère.

Les suçoirs sont de petites saillies sphériques envoyées dans les cellules par le mycélium ; ils sont souvent en nombre considérable, si bien qu'avant de voir le mycélium, on voit d'abord les suçoirs. Ils ne contiennent pas du tout de noyaux,

mais de nombreux cytosomes sphériques. Ces derniers remplissent presque entièrement leur cavité. Le cytoplasme dans les suçoirs est très dense, et fortement colorable ; leurs tubes de communication avec le mycéium ne sont pas faciles à voir, à cause de leurs petites dimensions. La membrane du suçoir est assez mince, et le cytoplasme refoulé à la périphérie.

3° Le *CYSTOPUS PORTULACAE*

Dans l'étude de cette espèce, nous n'avons guère à tenir compte que de deux mémoires, l'un dû à Stevens [31] et l'autre à Berlèse [2] pour comparer les résultats et chercher la cause des divergences d'interprétation qu'on y rencontre.

Nous donnerons d'abord une analyse du travail de Stevens le plus important des deux, sinon le premier en date.

Les premiers stades des deux gamétanges chez *C. Portulacae* ne diffèrent pas beaucoup de ceux décrits chez *C. Bliti*. Les noyaux y sont beaucoup plus nombreux que dans n'importe quelle autre espèce de *Cystopus* (300 à 400 par oogone) et par contre, plus petits.

L'agglomération du cytoplasme en plusieurs masses plus denses, est le premier signe du développement de l'oosphère. Ces masses se fusionnent presque aussitôt en une seule. Le cytoplasme homogène au centre, présente à la périphérie une région vacuolaire constituant le périplasme. Puis, les noyaux se localisent à la limite du périplasme et de l'ooplasme. Ce stade est dit de « zonation » par Stevens ; les noyaux en division sont alors à la métaphase.

Immédiatement après la zonation, de nombreux noyaux en division orientent leur fuseau de telle façon qu'un des noyaux fils se trouve dans l'ooplasme. Ainsi l'oosphère contient beaucoup de noyaux ; leur nombre varie généralement entre 50 et 100.

Ces premiers noyaux de l'oosphère se divisent à nouveau

et ce sont les noyaux fils qui fonctionnent comme éléments sexuels femelles. Ici donc, comme dans les autres espèces de *Cystopus*, il y a deux mitoses dans l'oogone; la deuxième mitose affecte seulement les noyaux de l'oosphère; elle diffère de la première par la disparition de la membrane nucléaire et la diminution des fibres du fuseau.

La formation du coenocentre a lieu un peu avant la zonation. Cet organe, qui est beaucoup moins évident et beaucoup plus éphémère chez cette espèce que chez *C. Bliti*, est en général de même nature.

Synchroniquement aux mitoses de l'oogone, deux mitoses ont lieu dans l'anthéridie, mais la différence que l'on peut établir entre la première mitose et la deuxième, dans l'oogone, ne peut être retrouvée dans l'anthéridie. Le cytoplasme de l'anthéridie se colore fortement par le violet de gentiane et ressemble au périplasme.

Une petite papille surgit de l'oogone à son point de contact avec l'anthéridie. Son développement chez cette espèce, commence beaucoup plus tard que chez les autres espèces de *Cystopus*, généralement après la différenciation de l'oosphère ou même au cours de la deuxième mitose.

Le mode de formation du tube fécondateur est incertain; ce dernier a une membrane fine bien définie et diffère beaucoup du tube gélatineux et gonflé de *C. Tragopogonis* et *C. candidus*, rappelant plutôt celui de *C. Bliti*; il contient environ 150 noyaux ou plus. Les noyaux mâles ont une forme ovale, lorsqu'ils ont atteint l'extrémité du tube et leur fraction antérieure se colore plus intensément. Lorsque le tube est arrivé à son complet développement, il s'ouvre et laisse échapper les noyaux qui copulent avec les noyaux femelles de l'oosphère. Avant la fusion, les deux sortes de noyaux mâles et femelles, s'élargissent un peu, mais recouvrent, peu après, leur forme primitive. Au cours de la fusion, ils restent à l'état de repos. Après leur fusion, on trouve une oosphère contenant 100 à 200 noyaux qui passent l'hiver sans subir

de changements. Lorsque l'oospore mûrit, on assiste à l'accumulation de réserves nutritives et à la formation des structures protectrices. L'endospore de *C. Portulacae* ne comporte qu'une seule couche et non deux comme chez *Cystopus Bliti*.

Dans l'étude de cette même espèce, Berlèse arrive à des résultats un peu différents : nous donnons, ci-dessous, un résumé de son mémoire.

Division des noyaux dans l'oogone.

Les noyaux dans le *C. Portulacae* sont pourvus d'une membrane, d'un nucléole et de chromatine ; ils ont une apparence presque homogène avant la division. Les nucléoles disparaissent dès la prophase ; la chromatine devient granuleuse et les chromosomes visibles ; ce sont de courts éléments, presque sphériques, plongés dans une substance homogène faiblement colorable. Les chromosomes, quoique déjà très nets à la prophase, ne sont pas faciles à compter à ce stade ; c'est le stade de la plaque équatoriale qui est le plus favorable à leur numération. Berlèse en a trouvé de 12 à 16. Le fuseau, bien visible, est probablement formé par le nucléole, car, ce dernier disparaît, au cours de la division, sans laisser aucune trace. Berlèse n'a pas pu mettre en évidence, la radiation polaire, ni la centrosphère, même dans ses meilleures préparations.

Après la formation de la plaque équatoriale, la membrane du noyau perd de plus en plus de sa netteté. La disparition de la membrane nucléaire est le signe de la fin de la prophase, et le noyau entre, peu après, en métaphase. Berlèse n'a pas observé la division longitudinale des chromosomes. La plaque équatoriale subit une division parallèle ou perpendiculaire ; les chromosomes se divisent en deux groupes qui s'acheminent vers les deux pôles.

Berlèse n'a pas rencontré de divisions nucléaires dans

l'anthéridie ; tous les noyaux de l'anthéridie proviennent du mycélium sans subir aucune division. Dans le tube fécondateur, se trouve un peu de cytoplasme de l'anthéridie et un noyau seulement. Le noyau du tube fécondateur ne diffère ni de ceux de l'anthéridie, ni de ceux de l'oogone.

D'après Berlèse, quand le noyau mâle pénètre dans l'oosphère, il ne se trouve pas directement auprès du noyau femelle, comme l'a dit Wager, mais il effectue un certain trajet à travers le cytoplasme, pour aller à la rencontre du noyau femelle. Ce même auteur a pu compter, dans le noyau mâle de 10 à 16 chromosomes. Le noyau de fusion contient plus de la moitié des chromosomes que chacun des noyaux femelles n'en comporte. Normalement, il n'y a pas de réduction chromatique avant la fusion, mais au cours de cette dernière, se réalisent certaines conditions qui déterminent la réduction chromatique.

Chez les Péronosporées, la réduction chromatique s'opère pendant les divisions successives du noyau de fusion. Berlèse a trouvé 32 noyaux chez *C. Portulacae*, *Peronospora Ficariae*, *P. parasitica*, etc., comme Wager dans *C. candidus*. Ces noyaux ont un nombre de chromosomes deux fois plus grand que le noyau du mycélium.

La germination des œufs a lieu de la manière suivante :

Après la résorption de l'eau, les gouttelettes d'huile disparaissent, le cytoplasme devient homogène, se fragmente ; et dans chacune des parties résultant de cette fragmentation, pénètre un noyau (plus de cent parties sont ainsi formées dans chaque oospore). Les cellules sont mises en liberté et forment des zoospores au moment où l'exospore et l'endospore se fondent.

Au début de la germination, il y a division du noyau de fusion. Dans ces mitoses, le nombre des chromosomes est le même que dans les noyaux de l'oogone. D'après cette constatation, il est évident qu'il y a une réduction du nombre de chromosomes dans les 32 noyaux qui proviennent du

noyau de fusion. La conclusion de Berlèse est que la réduction chromatique a lieu au commencement de la période de germination. Le nombre des chromosomes serait réduit de moitié, puis chaque noyau fils émigrerait dans une zoospore.

Bien que cette même espèce ait été étudiée avec la même technique par Stevens et Berlèse, les résultats obtenus sont totalement différents. Berlèse trouve 30 à 40 noyaux dans un oogone avant la première mitose, et dit que ces noyaux se divisent plusieurs fois de suite, leurs nucléoles disparaissant à la prophase. Stevens compte de 300 à 400 noyaux dans l'oogone et établit qu'ils se divisent deux fois, leurs nucléoles persistant jusqu'à l'anaphase. Berlèse trouve 10 à 12 noyaux dans l'anthéridie, tandis que Stevens donne un chiffre nettement supérieur. Berlèse représente une structure de l'ooplasme beaucoup plus grossièrement vacuolaire que celle figurée par Stevens : ce savant n'a pas vu la papille réceptive, et sa description du tube fécondateur est différente de celle de Stevens au point de vue structure et contenu. Berlèse pensait que les chromosomes étaient visibles dans le noyau mâle au cours de la fusion et il les a même comptés. Au contraire, Stevens a démontré que la fusion des noyaux a lieu à l'état de repos. Berlèse décrit l'oosphère et le tube fécondateur comme uninucléés, tandis que Stevens a montré que tous deux sont nettement plurinucléés.

I. — REPRODUCTION SEXUELLE.

Faute de matériel en quantité suffisante, il nous a été impossible d'étudier tous les stades, notamment ceux de la première et de la deuxième mitose, mais les quelques stades que nous avons étudiés, nous permettent de confirmer quelques points des travaux de Stevens et d'infirmer les résultats de Berlèse.

A. Formation du jeune oogone.

Chez cette espèce, le commencement de la formation du jeune oogone suit le même processus que chez les autres espèces du genre. Quand le jeune oogone vient de se former, le cytoplasme devient un peu plus lâche avec quelques grosses vacuoles dispersées de place en place ; les cytosomes distribués dans tout le cytoplasme sont nombreux. A ce stade, les noyaux commencent à grossir et les nucléoles grandissent également. Les noyaux de l'anthéridie ressemblent à ceux de l'oogone. Puis, les noyaux de l'oogone s'allongent, les nucléoles restant encore nets au centre et le réseau nucléaire apparaît. Peu après, les nucléoles deviennent moins faciles à distinguer, car d'autres granules apparaissent dans les mailles assez lâches du réseau.

D'après nos constatations, la formation de la papille qui est envoyée de l'oogone vers l'anthéridie, n'est pas plus tardive chez *C. Portulacæ* que chez les autres espèces de *Cystopus*, puisqu'elle a lieu au stade du jeune oogone comme chez les autres espèces (fig. 3, planche X). Dès que la papille a pénétré dans l'anthéridie, elle y laisse une masse cytoplasmique épaisse d'où ressort le tube fécondateur qui n'avance dans l'oogone que lentement, étant donné qu'au stade de la deuxième mitose, il a à peine franchi la ligne de démarcation (fig. 1, planche X). Au début, le tube court et rigide, ressemble beaucoup à une papille, ce qui nous fait supposer que Stevens a dû le confondre avec la papille car il dit que cette dernière se forme tardivement.

B. Stade de « zonation ».

La différenciation de l'oosphère commence presque en même temps que la première mitose. Au début, le cytoplasme de l'oogone montre plusieurs masses denses, finement va-

cuolaires qui se fusionnent ensuite pour donner l'oosphère rudimentaire (fig. 6, planche IX). Les noyaux en division se trouvent à la périphérie (fig. 6, planche IX) ; les noyaux fils pénètrent en grand nombre dans l'oosphère (fig. 4, planche X). Le chiffre de ces noyaux est loin d'être constant ; il y en a environ une cinquantaine (rien que dans une seule coupe, on peut en compter une dizaine). Ils sont petits, homogènes, fortement colorables. Peu après, ils grossissent et procèdent probablement à la deuxième mitose ; à ce moment, on y distingue nettement une membrane, un nucléole et un réseau chromatique.

L'ooplasme homogène est finement et régulièrement réticulé et l'on y trouve toujours des cytosomes sphériques ou allongés dans les trabécules (fig. 3, 4, planche X). Quand le périplasme possède des noyaux quelquefois groupés ensemble, et des cytosomes sphériques, on ne peut pas faire une distinction entre ces noyaux et ceux qui pénètrent dans l'oosphère. La membrane de l'oosphère n'est pas formée à ce moment, mais la ligne de démarcation est nettement visible et on observe quelquefois même une sorte de disjonction entre l'ooplasme et le périplasme.

Le coenocentre se présente, chez cette espèce, sous une forme très irrégulière, c'est une masse cytoplasmique, dense et homogène (fig. 4, planche IX) assez volumineuse, qui ne semble pas jouer un rôle très important ; elle apparaît dès la zonation et disparaît après la fusion.

C. Stade de la première mitose.

Après la formation de l'oosphère, les noyaux se rangent à la périphérie pour effectuer leur division. Nous ne pouvons préciser les modalités de division, car la fixation au Regaud n'est pas favorable à une telle étude (fig. 6, planche IX).

D. *Stade de la fusion des noyaux.*

Nous n'avons pas pu suivre tous les stades de la première et de la deuxième mitose chez cette espèce. Mais si l'on en juge par le nombre des noyaux de l'oosphère, on peut admettre que la deuxième mitose a lieu normalement. Le tube fécondateur qui s'est introduit dans l'oosphère ressemble beaucoup à celui de *C. Bliti* ; sa membrane, très mince à l'extrémité est au contraire épaisse à la base. Nous avons rencontré dans une de nos préparations ce tube coupé transversalement, on pouvait y distinguer de nombreuses files de noyaux ; le nombre de noyaux mâles envoyés de l'anthéridie au tube fécondateur est donc assez élevé. Tous ces noyaux mâles ont une forme ovale et sont serrés les uns contre les autres ; ils sont munis d'une membrane et d'un nucléole.

Nous retrouvons chez *Cystopus Portulacae* les mêmes stades que chez *C. Bliti*. L'oosphère est toujours multinucléée, ainsi que le tube fécondateur de sorte qu'au lieu de quatre noyaux copulant deux à deux comme l'affirme Berlèse, on trouve en réalité de nombreuses paires en fusion ; dans une seule section, par exemple, nous en avons compté une dizaine (fig. 4, planche IX).

La fusion de ces noyaux mâles et femelles doit s'effectuer lentement, car, même au stade où l'exospore est presque achevée, on distingue encore quelques paires de noyaux en voie de fusion. Immédiatement après la fusion, les noyaux paraissent homogènes, on n'y voit ni nucléole, ni réseau chromatique, tant ils sont chromophiles. Ce n'est que plus tard que l'on peut trouver ces noyaux à l'état normal.

E. *Stade de l'œuf formé.*

Lorsque la fusion des nombreuses paires de noyaux est achevée, l'ooplasme perd son aspect vacuolaire et devient dense, la structure finement réticulée de l'oosphère rudimentaire a disparu. A ce stade, on voit dans l'ooplasme de nombreuses sphérules de toutes grosseurs, fortement colorables qui se fusionnent pour former un gros globule central comme chez les autres espèces de ce groupe de champignons. Ces sphérules masquent souvent les noyaux de l'ooplasme (fig. 4, 7, planche IX) (fig. 2, planche X).

Le mode de formation de l'exospore et de l'endospore, chez ce champignon, semble beaucoup plus simple que chez les autres espèces. L'endospore se forme certainement plus tard que l'exospore et au dépens de l'ooplasme; elle est sûrement monostrate comme le dit Stevens. Quelquefois, on voit une membrane très mince intercalée entre l'exospore et l'endospore. L'endospore est homogène, sans striations d'épaisseur et de courbure constantes (fig. 8, planche IX).

L'exospore est par contre nettement double; elle est formée d'une couche interne relativement épaisse et non colorable, qui forme l'armature des ornements réticulés de la coque et d'une couche externe, très mince, normalement brune, colorable en rouge par la fuchsine, localisée sous forme d'îlots souvent perforés au centre dans les fossettes délimitées par le réseau que forme la membrane interne.

Les noyaux de l'œuf formé, sont presque aussi petits que les noyaux végétatifs et certainement plus petits que ceux de *C. Bliti*. Quand la formation de l'exospore et de l'endospore est achevée, l'ooplasme redevient finement vacuolaire et montre çà et là des noyaux et quelques cytosomes sphériques (fig. 8, planche IX).

F. Germination de l'œuf.

Nous n'avons pu observer (pas plus que Stevens d'ailleurs) la germination des œufs décrite par Berlèse, mais si nous tenons compte des observations faites par nous sur la germination des œufs de *Cystopus Tragopogonis*, il est vraisemblable d'admettre, jusqu'à nouvel ordre, que la description de Berlèse est exacte, sur ce point.

II. — REPRODUCTION ASEXUELLE.

Les *conidies*, conformément aux observations de Tulasne, présentent le phénomène de dimorphisme ; les premières forment la majeure partie des chapelets ; elles sont cylindriques, leur membrane est mince et incolore ; les secondes ne se trouvent qu'à l'extrémité des chapelets, elles sont plutôt rectangulaires et souvent vides ; leur membrane est épaisse et légèrement colorée en gris jaunâtre.

Les conidiophores communiquent avec le mycélium qui leur envoie les cytosomes et les noyaux. Les stades en bâtonnets du cytome ne pouvant pas être trouvés dans les conidiophores, il ne semble pas y avoir de division des cytosomes à ce niveau. Le conidiophore rempli de cytosomes sphériques et de noyaux (5-7 environ) s'étrangle progressivement vers le milieu de sa hauteur, de sorte qu'à la fin, le conidiophore et la conidie nouvellement formée ne sont plus en communication que par un orifice étroit.

Dans les conidies les plus jeunes, les cytosomes sont disséminées pêle-mêle, mais lorsqu'elles vieillissent et que leur position dans les chapelets devient par conséquent de plus en plus élevée, les cytosomes se rangent en cercles autour des noyaux. On peut compter de 2 à 4, quelquefois jusqu'à 5 groupements cytoplasmiques, périnucléaires dans chaque conidie ; chacun de ces groupes donnera plus tard une zoospore, par suite du clivage du cytoplasme.

Le *mycélium* renferme dans ses trabécules cytoplasmiques de nombreux cytosomes sphériques ; ils forment des amas ou des chaînettes. Quelquefois, la chromatine manque, de sorte que les cytosomes apparaissent sous la forme d'anneaux. Le mycélium est plus abondant là où se forment les conidiophores.

Les suçoirs sont souvent très colorés ; ils sont très nombreux, globulaires et bourrés de cytosomes sphériques ; on ne distingue pas très bien leurs points de communication avec le mycélium.

4° Le *CYSTOPUS TRAGOPOGONIS*

Cette espèce a fait l'objet en 1901 d'une étude remarquable de Stevens [30] ; nous allons en donner d'abord une analyse, avant d'exposer nos recherches personnelles.

Chez *C. Tragopogonis*, il y a une fécondation simple, c'est-à-dire qu'un seul noyau mâle est envoyé dans l'oosphère pour féconder le noyau femelle.

Les jeunes stades de cette espèce sont semblables à ceux de *C. Portulacae*. Le cytoplasme pénètre dans l'oogone, les noyaux grossissent, le cytoplasme se concentre au milieu et finalement on arrive au stade de zonation bien développé. Il y a une masse centrale d'ooplasme, dense, finement vacuolaire qui se différencie nettement du périplasme fibreux et fortement colorable. Cette région centrale qui contient un coenocentre très visible à ce moment est entièrement dépourvue de noyaux. Tous les noyaux en métaphase se trouvent dans le périplasme et c'est là qu'ils vont finir leur mitose. Après leur division, des noyaux fils rentrent dans l'ooplasme. Leur nombre est d'environ une cinquantaine.

Les noyaux primaires de l'oosphère subissent une deuxième division, qui se distingue de la première par l'aspect de la figure chromatique, et qui affecte seulement les noyaux de

l'oosphère. Jusqu'à ce stade, le développement de *C. Tragopogonis* ne diffère pas de celui de *C. Biliti* et *C. Portulacae*, puisqu'il a aussi une oosphère plurinucléée. Après la deuxième division, un seul noyau fils (rarement deux) vient en contact avec le coenocentre et c'est là qu'il grandit, jusqu'à atteindre plusieurs fois sa taille primitive.

Une étude de l'oosphère, après la deuxième mitose montre les noyaux femelles qui n'ont pas fusionné dans différents états de dégénérescence. Ils perdent leur réseau chromatique, leur membrane, mais leur nucléole persiste plus longtemps. Immédiatement après la deuxième division, ces noyaux en dégénérescence sont très nombreux ; mais quand le tube fécondateur met son contenu en liberté, ils disparaissent presque tous sauf le noyau sexuel au centre. Il est évident que l'oosphère, tout d'abord plurinucléée, ne devient uninucléée qu'après la deuxième mitose.

Le coenocentre apparaît un peu avant la zonation ; peu de temps après, il est bien développé et présente dans la section plusieurs zones de cytoplasme différentes comme densité et comme coloration. Dans les stades ultérieurs, les zones périphériques disparaissent et seule la région interne sphérique persiste et prend une apparence homogène. Au moment de la deuxième mitose, le coenocentre perd son apparence nette et devient grossièrement granuleux.

Le coenocentre attire les noyaux. Plusieurs noyaux viennent à son contact et même le pénètrent ; ils demeurent ainsi durant tous les stades de la deuxième mitose. Après la deuxième mitose, un petit noyau reste attaché au coenocentre (ce phénomène est peu net chez *C. Tragopogonis*). Quand ce noyau augmente de volume, le coenocentre devient plus granuleux et perd sa forme primitive, de sorte qu'à la fin, il apparaît simplement comme une masse granuleuse enveloppant partiellement le noyau femelle. Un petit nombre de noyaux en dégénérescence se trouvent dans l'ooplasme, qui garde encore sa structure finement alvéolaire.

Le tube fécondateur qui a une membrane fine, contient généralement plusieurs noyaux en dégénérescence et un ou deux qui sont plus gros et capables de fonctionner comme noyaux mâles. Lorsque le noyau mâle est libéré, il va à la rencontre du noyau femelle et prend une forme ovale.

Les deux noyaux sexuels sont en contact, c'est le mâle qui est le plus petit. La fusion n'a pas lieu tout de suite ; le noyau mâle grossit jusqu'à ce qu'il soit presque égal en volume au noyau femelle. Après cela, les deux noyaux à l'état de repos se fusionnent.

Avant que les réserves de nourriture soient accumulées, le noyau de fusion se divise, présentant une figure nucléaire énorme. Comme ces divisions se succèdent, les noyaux diminuent de volume, de sorte qu'à la fin, les noyaux de l'oospore sont de la même grandeur que les noyaux végétatifs, et leur nombre est probablement de 30 à 40. Quand l'oospore est mûre, elle montre dans ses membranes et dans son contenu des changements analogues à ceux des autres espèces de ce groupe.

Nos recherches ont permis de compléter sur plusieurs points cette étude de Stevens.

I. — REPRODUCTION SEXUELLE.

A. *Formation du jeune oogone et de l'anthéridie.*

Le jeune oogone et la jeune anthéridie se forment suivant le procédé commun à tous les *Cystopus*. Dans le jeune oogone, il y a de nombreux noyaux distribués dans un cytoplasme nébuleux. Au commencement, ces noyaux sont petits et homogènes, puis ils grandissent et on distingue facilement leurs granules chromatiques, leur nucléole et leur membrane. Les noyaux dans le jeune oogone sont au nombre d'une centaine environ ; rien que dans une seule section, on peut en

compter une vingtaine. Dans la jeune anthéridie, on peut en trouver au total une vingtaine environ, qui sont distribués dans un cytoplasme épais, peu vacuolaire.

Au cours de nos recherches, nous n'avons pu trouver la papille réceptive ; cela ne veut pas dire qu'elle n'existe pas puisqu'elle se trouve dans toutes les espèces de *Cystopus*.

B. Stade de zonation.

Chez cette espèce, pour la zonation, il n'y a pas de rassemblement préalable du cytoplasme, comme chez les *Cystopus Bliti* et *C. Portulacae*, mais la différenciation de l'oosphère correspond peut-être à celle de *Cystopus candidus*, c'est-à-dire qu'elle consiste en une condensation du cytoplasme vers le centre et un exode des vacuoles et des noyaux vers la périphérie de sorte que, à la fin, une oosphère à toutes petites mailles s'est formée avec un périplasme bien colorable et largement vacuolaire à sa périphérie. A ce moment, les noyaux en métaphase se trouvent presque tous au bord de l'ooplasme, qui ne se distingue pas nettement du périplasme (fig. 2, planche XII).

C. La première mitose.

La première mitose affecte tous les noyaux dans l'anthéridie et dans l'oogone ; avant la zonation ces noyaux sont généralement en prophase ; au moment de la zonation, ils sont en métaphase. Ils nous a paru que le nucléole disparaît dès la prophase, car, lorsque survient la métaphase, nous n'avons pas réussi à le trouver à côté du fuseau. Les fuseaux de la première mitose sont généralement petits, avec la membrane nucléaire tout autour. On compte une douzaine de chromosomes dans la plaque équatoriale, et on voit nettement les centrosomes, qui se colorent autrement que

les chromosomes (fig. 2, planche XII). La plupart de ces fuseaux sont orientés perpendiculairement à la ligne de démarcation, de sorte qu'à la fin de la mitose, beaucoup de noyaux fils peuvent rentrer facilement dans l'oosphère. La membrane nucléaire disparaît à l'anaphase. Lorsque les deux groupes de chromosomes arrivent aux deux extrémités, ils se mêlent aux centrosomes. Pendant que les quelques fibres du fuseau, qui joignent encore les deux groupes de chromosomes, disparaissent, ces derniers s'entourent d'une membrane et les noyaux fils sont formés (fig. 2, planche XII). Beaucoup d'entre eux rentrent dans l'oosphère pour se diviser encore une fois. Leur nombre est d'environ une trentaine.

Au cours de la division des noyaux, il apparaît au centre de l'oosphère un corps très gros qui semble un amas de cytoplasme condensé, avec plusieurs zones plus ou moins épaisses se colorant différemment. Ce n'est pas autre chose que le coenocentre (fig. 3, planche XI, fig. 3, planche XII). Il exerce peut-être une influence sur les noyaux de l'oosphère. Les noyaux ont toujours leur chromatine localisée dans les extrémités antérieures, c'est-à-dire vers le coenocentre (fig. 3, planche XII). En dehors de cette apparition, le périplasme et l'ooplasmе ne subissent pas beaucoup de changements; une fois que la rentrée des noyaux s'effectue, la ligne de démarcation devient plus nette.

La deuxième mitose.

La deuxième mitose affecte les noyaux de l'anthéride et les noyaux de l'oosphère, elle diffère de la première par le fuseau qui est plus allongé et plus mince et par la diminution du contenu chromatique. Les noyaux en mitose dans l'oosphère forment une sorte de cercle autour du coenocentre qui prend une forme irrégulièrement sphérique. L'oosplame de-

vient un peu vacuolaire, tandis que le périplasme reste vacuolaire et fibreux, avec à ce stade des noyaux groupés.

Bien qu'il n'y ait qu'un seul noyau destiné à devenir le noyau femelle de fécondation, nous avons trouvé plusieurs fuseaux qui ont enfoncé leurs extrémités dans le coenocentre (*C. candidus*, fig. 1, planche III). Parmi ces fuseaux qui sont tous à peu près identiques, il est difficile de dire lequel va fournir le noyau femelle. Peut-être que celui qui s'enfonce le plus à l'intérieur du coenocentre a plus de chance de réussir. Il est vraiment curieux de voir deux ou trois fuseaux attirés par le coenocentre. Finalement un seul noyau reste attaché au coenocentre, les autres vont dégénérer dans l'oosphère (fig. 3, planche XI, fig. 3, planche XII). A ce moment, le tube fécondateur entre dans l'oosphère, il est très gélatineux et sa membrane est très mince (fig. 2, 5, planche XI). Puisqu'un seul noyau femelle a besoin d'être fécondé, le tube doit contenir un seul noyau mâle, ou deux exceptionnellement.

D. Fécondation.

Chez *Cystopus Tragopogonis*, comme chez *Cystopus candidus*, la fécondation consiste en la seule fusion d'un noyau mâle et d'un noyau femelle. Après la libération du contenu du tube fécondateur, celui-ci se retire, et le noyau mâle qui est un peu ovale à la sortie du tube, va à la rencontre du noyau femelle, c'est-à-dire vers le coenocentre. Le noyau mâle est toujours plus petit que le noyau femelle (fig. 5, planche XI). Avant la fécondation, les deux noyaux ont mis beaucoup de temps pour devenir 2 ou 3 fois plus grands que les noyaux originaux (fig. 5, planche XII). Ces deux noyaux se posent sur le coenocentre. Au moment de la fusion, on voit encore les traces du coenocentre autour des deux noyaux (fig. 4, planche XI). Bien que la fusion se passe à l'état de repos des noyaux, on distingue tout de même des

granules chromatiques distribués dans leurs réseaux nucléaires (fig. 5, planche XII). La fusion doit se faire assez vite, plus vite certainement que chez *Peronospora effusa*, puisqu'on ne peut pas trouver facilement les stades en forme d'haltère et de forme sphérique. De plus, on ne trouve pas à ce moment dans l'ooplasme d'autres noyaux que les deux noyaux sexuels en voie de fusion.

E. L'oospore.

Après la fusion d'une seule paire de noyaux mâle et femelle le noyau de fécondation se divise par une mitose sans doute réductrice. Dans les noyaux qui en proviennent la chromatine ne forme pas de filaments, mais se condense en une, puis deux masses, qui représentent sans doute une réunion des chromosomes : c'est alors que disparaît le nucléole (fig. 8 ; planche XII) ; la membrane nucléaire persiste jusqu'à la formation du fuseau. La membrane qui se colore en violet autour du noyau central ne peut pas être retrouvée au stade de fuseau. Le fuseau dans l'oospore est deux ou trois fois plus long que celui de la première mitose de l'oogone. Lorsque le fuseau s'est formé, on voit nettement dans certains cas deux masses chromatiques à l'équateur et deux centrosomes aux pôles ; mais, le nombre de chromosomes est très difficile à déterminer, car nous avons vu aussi un fuseau où l'on pouvait compter une douzaine de chromosomes (fig. 7, 8, planche XII). Quand les chromosomes arrivent aux deux pôles, ils se mêlent, s'entourent d'une membrane et les deux noyaux fils sont formés. Ces deux noyaux fils ne tardent pas à se diviser à nouveau et ainsi de suite jusqu'à ce que une trentaine de noyaux soient formés dans l'œuf. Dans l'oospore, les noyaux ne se divisent pas simultanément comme dans l'oogone, car on trouve souvent un seul fuseau en métaphase à côté des noyaux en prophase ou en anaphase (fig. 7, 8, planche XII).

Quand le noyau de fécondation commence à se diviser, il se produit dans l'oosphère 2 formations nouvelles ; des masses arrondies, colorées en bleu par la triple coloration qui contribuent certainement à la formation de l'endospore, et des corps jaunes qui se fusionnent entre eux pour former le globule central. A ce moment, à l'extérieur de la membrane primitive, se forme la couche striée, à canalicules aux dépens du périplasme avec des cytosomes sphériques et des noyaux en dégénérescence (fig. 7, planche XII).

Au cours de ces divisions successives des noyaux dans l'oospore, après la formation de la couche striée, la couche aux ornements et l'endospore se forment presque simultanément. Cette dernière a une seule couche comme chez *C. Portulacae* (fig. 8, 9, planche XII). Lorsque ces deux couches viennent de s'achever, et que les noyaux dans l'oospore ont fini de se diviser, on peut dire que l'œuf est formé. Dans l'œuf, on trouve un globule central, avec une couche pariétale de cytoplasme tout autour et enfin les 3 enveloppes. Dans la couche pariétale de cytoplasme, on trouve une trentaine de noyaux à l'état de repos et des cytosomes sphériques (fig. 6, planche XI). Ces noyaux sont pourvus d'une membrane nucléaire et d'un nucléole (fig. 9, planche XII). Le cytoplasme dans l'œuf formé est nettement alvéolaire.

F. Cytome et Vacuome.

Les cytosomes sphériques se trouvent à presque tous les stades. Ils sont nombreux dans les stades jeunes, mais, contrairement à ce qui a été vu chez d'autres espèces, les stades en bâtonnets ne paraissent ni fréquents, ni très nets (fig. 1, planche XI). Lorsque vient le stade de la différenciation de l'oosphère, la plupart des cytosomes sphériques ainsi que les précipités métachromatiques sont expulsés à la périphérie, mais dans l'oosphère jeune, on trouve des cytosomes qui paraissent plus petits que ceux du périplasme

(fig. 4, planche XI). Généralement les stades en bâtonnets font défaut dans l'oosphère jeune. Lorsque le coenocentre est formé et que les noyaux de l'oosphère commencent leur deuxième mitose, il n'y a pas beaucoup de changement parmi les cytosomes sauf que de petits corpuscules métachromatiques font leur apparition et se mêlent souvent aux cytosomes sphériques (fig. 4, planche XI).

Dans l'anthéridie, depuis son jeune stade jusqu'au stade de fécondation, il existe toujours des cytosomes sphériques. Au moment de l'ouverture du tube fécondateur, ce dernier apporte à l'oosphère non seulement un noyau de l'anthéridie mais aussi une partie du cytoplasme mâle et des cytosomes sphériques d'origine mâle (fig. 5, planche XI). Malgré cet apport d'une partie des cytosomes mâles, les cytosomes dans l'oosphère ne sont pas très nombreux ; ils se distribuent dans les mailles de l'ooplasme devenues de plus en plus larges. Les cytosomes dans le périplasme ne forment pas de groupements comme chez *C. Bliti*.

Au moment où a lieu la fusion des deux noyaux mâle et femelle, il apparaît dans l'oosphère de nombreux corpuscules de différentes grosseurs qui masquent souvent les cytosomes et aussi les noyaux en fusion. Ces corpuscules vont se fusionner en formant un très gros globule central qui occupe la plus grande partie de l'oosphère. Dans la couche pariétale du cytoplasme de l'oospore, on trouve en dehors de nombreux noyaux, des cytosomes qui paraissent un peu plus gros que ceux des stades précédents (fig. 6, planche XI).

Les vacuoles et les précipités mitachromatiques sont abondants dans les stades jeunes. Quand les grosses vacuoles et les grosses précipitations sont expulsées à la périphérie, il ne reste plus dans l'ooplasme que toutes les petites vacuoles à peine visibles, dans lesquelles on trouve toujours de petites précipitations métachromatiques. Dans le stade de fusion, on trouve beaucoup de corpuscules de différentes grosseurs, soit dans les vacuoles, soit dans les trabécales, il

est parfois difficile de les distinguer. Dans le périplasme, il y a toujours de grosses vacuoles avec leurs nombreux précipités métachromatiques. Dans les endochromidies d'une certaine grandeur, on distingue souvent des petits corps réfringents dont la nature exacte reste indéterminée (fig. 9, planche XII).

G. Germination des œufs.

Si nous n'avons pas pu faire germer les œufs de *C. Portulacae* comme Berlèse, nous avons pu en revanche, observer dans la nature la germination de ceux du *C. Tragopogonis*.

Tout d'abord, nous constatons la disparition du gros globule central qui constitue une partie très visible de l'oospore. Les noyaux dans l'oospore sont régulièrement répartis dans le cytoplasme qui est à peu près homogène. Peu après, autour de chaque noyau se produit une sorte de condensation du cytoplasme qui entraîne nécessairement des clivages. A ce moment, les cytosomes sphériques, qui sont nombreux dans l'oospore, se groupent autour de chaque noyau, en formant des cercles plus ou moins réguliers. L'aspect d'ensemble de l'oospore comporte de nombreuses portions cytoplasmiques dont chacune contient au centre un noyau qu'entourent une vingtaine de cytosomes ou même davantage. Tout d'abord dans l'intervalle de ces portions cytoplasmiques, il y a de petites vacuoles qui, au fur et à mesure que le cytoplasme se condense autour du noyau, s'élargissent de plus en plus, rendent le clivage de plus en plus accentué. Ce mode de formation des zoospores dans l'œuf, rappelle un peu celui des spores dans le sporange de certains Mucorinées qui ont été étudiés par M^{me} Moreau. Finalement les portions cytoplasmiques se séparent et les zoospores deviennent libres.

Le groupement des cytosomes autour de chaque noyau dans l'oospore en germination, rappelle celui qui se produit dans les conidies ; cette disposition si caractéristique est particulièrement remarquable.

II. — REPRODUCTION ASEXUELLE.

Dans cette espèce, nos observations n'ont porté que sur la manière d'être du cytome et la distribution des cytosomes dans le *mycélium*, les conidiophores et les conidies.

Les cytosomes sont distribués pêle-mêle dans les conidies nouvellement formées. C'est seulement à partir du troisième ou du quatrième rang à partir de la base du chapelet qu'elles commencent à faire cercle autour des noyaux. Entre ces groupements, on trouve quelquefois des petites vacuoles. Il y a environ 3 à 5 groupements dans chaque conidie, dont chacun va former une zoospore. Les cytosomes dans la conidie proviennent du mycélium au même titre que les noyaux. Dans les conidiophores, il n'y a pas de division du noyau, ni des cytosomes. Les cytosomes dans la conidie sont toujours sphériques.

Le diamètre du mycélium est grand ou faible suivant les dimensions des espaces intercellulaires. On trouve beaucoup de cytosomes sphériques dans les trabécules cytoplasmiques du mycélium ; ces cytosomes forment quelquefois des amas, quelquefois des chaînettes. Les stades en bâtonnets du cytome ne manquent pas dans le mycélium.

Les suçoirs ne sont pas faciles à distinguer, mais ceux que nous avons rencontrés sont remplis souvent par des cytosomes sphériques.

5° Le *PERONOSPORA EFFUSA*

Cette espèce était particulièrement intéressante à étudier parce qu'elle n'a pas été l'objet jusqu'ici de travaux détaillés. Berlèse qui l'avait étudiée [2], n'en parle que tout à fait incidemment dans son travail.

I. — REPRODUCTION SEXUELLE.

A. Développement du jeune oogone et de l'anthéridie.

Les noyaux du jeune oogone de *P. effusa* sont irréguliers dans leurs formes et le contour du jeune oogone l'est également. L'oogone peut être intercalaire ou terminal ; il est formé par l'élargissement du mycélium. Il est facile de distinguer l'oogone nouvellement formé des parties larges du mycélium, à l'abondance du cytoplasme, à l'allongement des noyaux et aux vacuoles anguleuses. Ces phénomènes sont dus à l'écoulement du cytoplasme qui tend à remplir l'oogone élargi, comme l'ont fait remarquer beaucoup d'auteurs. L'oogone se sépare alors, à la base, par une cloison du mycélium végétatif ; il a pris la forme sphérique et les noyaux recouvrent leur forme normale. D'après Wager, les noyaux du très jeune oogone de *P. parasitica* montrent une membrane nucléaire et un réseau granuleux, mais pas de nucléole (ou du moins, si ce dernier existe, il est très petit, et difficile à distinguer des autres granules de réseau). Chez *P. effusa*, c'est quelquefois vrai pour le matériel fixé dans le liquide chromo-acétique, mais après fixation au liquide de Regaud, nous avons trouvé un nucléole bien net dans les noyaux à ce stade.

L'anthéridie se développe en même temps que l'oogone, mais, comme il n'y a pas d'écoulement sensible du cytoplasme, il n'y a pas de déformation des noyaux, ni des vacuoles ce qui est peut-être dû à la petite dimension de l'anthéridie. Finalement, elle se sépare de l'hyphe qui lui a donné naissance, par une cloison, et son contenu est analogue à celui de l'oogone.

Dès que les noyaux sont entrés dans l'oogone, ils augmentent de volume (peut-être même avant que les oogones ne soient séparés de l'hyphe-mère) ; leur réseau de linine et

leurs granules chromatiques deviennent plus nets et fortement colorables. Nous arrivons alors à un stade où les noyaux sont deux ou trois fois plus gros que les noyaux végétatifs ; les corps chromatiques et peut-être les réseaux de linine, se rejettent sur un seul côté du noyau, en formant une sorte d'arc, le contenu du reste du noyau devient incolore et n'est plus formé que de nucléoplasme homogène (fig. 3, 4, 6, planche XIII). La mitose va commencer (A ce stade, la membrane de l'oogone devient un peu plus épaisse).

C'est à ce moment que le nombre des noyaux peut être déterminé le plus facilement et le plus exactement. Nous en avons trouvé environ 40 à 50 dans l'oogone et 6 à 10 dans l'anthéridie, en prenant la moyenne dans deux ou trois coupes successives.

Le cytoplasme est un peu écarté par le fixateur employé de la membrane de l'oogone, sauf en face de l'anthéridie où il est en contact avec elle. Dans cette région, le cytoplasme renferme de nombreuses granulations colorables par la safranine ; si la différenciation n'est pas bonne, il prend l'aspect d'une masse rouge uniforme ; c'est là que se secréterait, d'après Wager, une enzyme qui dissout la partie de la membrane de l'oogone en contact avec l'anthéridie. Il en résulte une perforation par où le cytoplasme de l'oogone fait hernie sous forme de papille de l'anthéridie (fig. 1, planche XIII). Il est curieux de constater que c'est précisément le cytoplasme femelle qui se déplace pour se rapprocher de l'organe mâle. Il est bien difficile de décider si la fine membrane qui sépare encore les deux protoplasmes de sexes opposés appartient à l'anthéridie ou à l'oogone, car le contenu de la papille retient fortement les colorants et n'est pas facile à étudier. Nous ne sommes pas certain que la fine membrane de cette papille se déchire ou que le contenu de celle-ci retourne intégralement dans l'oogone.

En tout cas, dans les stades suivants, on ne trouve plus trace de son existence. Plus tard, il y a un mouvement du cyto-

plasme dans la direction opposée et c'est l'anthéridie qui pousse un prolongement à l'intérieur de l'oogone, en passant par l'ouverture de la membrane. D'après Stevens, chez *C. Bliti*, la première pénétration du cytoplasme de l'oogone dans l'anthéridie est peut-être tout simplement due aux conditions inégales de turgescence dans les deux organes, mais, il est possible que ce phénomène ait aussi une signification phylogénétique. D'après Wager, la papille contribue à la perforation de la membrane de l'oogone, et à la formation du tube fécondateur. Il l'appelle comme on l'a vu la papille réceptive parce qu'elle marque l'endroit par où le tube fécondateur pénétrera dans l'oogone. Le tube fécondateur, dont la membrane est mince, est rempli d'un cytoplasme dense facilement colorable ; il est entouré par une couche de cytoplasme dense de l'oogone (fig. 11, planche XIV). Les noyaux restent dans l'anthéridie et aucun d'eux n'entre dans le tube à ce moment. Rien ne peut distinguer ces noyaux de ceux de l'oogone. Ils sont en division, comme ces derniers.

B. Différenciation de l'oosphère.

Chez *Cystopus*, le procédé consiste essentiellement en un mouvement centripète du cytoplasme et aboutit à une accumulation du cytoplasme vers le centre de l'oogone, de telle manière que les vacuoles et les noyaux sont portés à la périphérie de la portion centrale plus dense, ainsi développée.

Tout ce que nous avons trouvé chez *P. effusa*, est contraire à ce qui a été décrit. Le procédé de différenciation de l'oosphère consiste en un mouvement centrifuge de cytoplasme ; il en résulte une sorte de refoulement du cytoplasme et des noyaux à la périphérie, de sorte que toutes les grosses vacuoles restent au centre. A ce moment, on voit bien que l'ooplasme est largement vacuolaire, et forme un contraste avec le périplasme dense muni de rares petites vacuoles à peine visibles (fig. 6, 8, 9, planche XIII). Comme tous les

noyaux passent à la périphérie de l'ooplasme, il ne reste plus du tout de noyaux au centre, ce qui est caractéristique de ce stade. A ce moment, la limite entre le périplasma et l'ooplasme est irrégulière, à cause du cytoplasme qui ne passe pas assez vite à la périphérie. Au fur et à mesure que les noyaux s'arrangent autour de l'ooplasme, en formant une sorte de cercle, cette partition devient plus régulière, mais il n'y a pas encore de membrane bien définie (fig. 9, planche XIII).

A ce stade, le tube fécondateur de l'anthéridie a déjà pénétré dans le périplasma jusqu'à la ligne de démarcation ; c'est seulement plus tard, à la fin de la mitose, qu'il pénétrera dans l'oosphère.

C. Mitoses simultanées dans l'oogone et l'anthéridie.

La mitose a lieu en même temps pour tous les noyaux de l'oogone (le cas de division d'un seul noyau est très exceptionnel). L'oogone, au stade de différenciation, montre souvent les mitoses à la métaphase ou encore à l'anaphase, alors que les noyaux sont en général en prophase avant ce stade. Il est clair que les anaphases ne peuvent se présenter qu'après que l'oosphère est bien différenciée, mais la prophase commence dès que l'oogone est vacuolisé. La différenciation de l'oosphère qui ne consiste qu'en un passage du cytoplasme à la périphérie, s'achève donc beaucoup plus vite. Avant la formation des fuseaux, les noyaux s'allongent, tandis que la chromatine forme des petites granules distribuées dans le nucléoplasme qui est une petite masse, homogène, un peu plus foncée que le cytoplasme (fig. 5, 7, planche XIII). Ces granules sont tout d'abord irréguliers et très nombreux ; puis, petit à petit, ils deviennent plus uniformes, mais moins nombreux, ce qui est probablement dû à la fusion de ces petits corps entre eux pour donner un petit nombre de chromosomes sphériques. Dès que ces chromosomes appro-

chent du centre, on voit apparaître, dans chaque extrémité du noyau allongé, un corps arrondi qui correspond probablement au centrosome (fig. 8, 10, planche XIII). Wager a dit pour *P. parasitica* qu'il n'y a pas de centrosome défini, sauf quelquefois un petit granule trouvé à chaque extrémité du fuseau qu'on peut prendre comme tel. Pour nous, chaque fois que l'on trouve un fuseau régulier chez *P. effusa*, il y a toujours un centrosome à chaque extrémité. Les fibres du fuseau de *P. effusa* ne paraissent pas très nettement définies, mais nous sommes sûr qu'elles existent dans la région claire du nucléoplasme (fig. 5, 7, planche XIII). Quant au fuseau tout entier, on le confond quelquefois avec le nucléoplasme. Parfois, il est oblong et presque transparent à l'intérieur de ce dernier.

Tous les fuseaux à la métaphase restent tout près de la ligne de démarcation qui sépare l'ooplasme du périplasme. La plupart de ces fuseaux restent tangents à la ligne ; il y en a à peine un ou deux qui la croisent (fig. 8, 10, planche XIII). D'après Stevens, les fuseaux qui croisent la ligne cèdent un noyau fils au périplasme et l'autre à l'ooplasme. Si cela est, il n'est pas étonnant de trouver un ou deux fuseaux qui croisent la ligne de démarcation chez notre espèce, puisqu'il n'y a qu'un ou deux noyaux fils qui rentrent dans l'oosphère.

Dès le commencement de la mitose, la membrane nucléaire disparaît ; c'est une différence avec ce qui a lieu chez les *Cystopus* puisque, chez ces derniers, la membrane nucléaire persiste jusqu'à la fin de la mitose.

Les chromosomes restent pêle-mêle dans la région équatoriale ; ils sont au nombre de 7 ou 8. Il est difficile de préciser leur mode de division, étant donnée leur petite taille.

Chez cette espèce, nous ne retrouvons pas le nucléole dans tous les stades de la mitose. A la prophase, il est très net, à la métaphase on trouve quelquefois un granule plus gros que les chromosomes, à côté du fuseau. Chez *P. parasitica*, Wager dit que le nucléole n'existe pas pendant la mitose, à

moins qu'il ne passe inaperçu parmi les autres granules chromatiques.

Les chromosomes, après leur division, se dirigent vers les deux pôles du fuseau avec des vitesses inégales. Les deux pôles perdent leur netteté ; quand les chromosomes arrivent au pôle, ils se fusionnent. On ne distingue plus alors les centrosomes. A ce stade, on voit encore quelques traces du fuseau joignant les deux groupes de chromosomes mêlés.

Après la disparition de ces traces de fuseau, les noyaux fils sont complètement formés. Nous ne pouvons pas affirmer que les centrosomes des Péronosporées persistent comme organes permanents dans les noyaux. Ces petits corps qui sont très nets à la métaphase ne peuvent être distingués des autres granules chromatiques, dans les noyaux fils.

Les noyaux de l'anthéridie se divisent simultanément avec ceux de l'oogone, et ceci est tellement vrai que si l'on connaît le stade de la division dans un de ces organes, on peut prédire que dans l'autre la division est au même stade. Il n'y a pas de différence entre les mitoses de l'oogone et celles de l'anthéridie.

D. Maturation de l'oosphère et de l'anthéridie.

Vers la fin de la mitose, le cytoplasme de l'oosphère subit de grands changements. Les grosses vacuoles du centre disparaissent et sont remplacées par de toutes petites vacuoles. L'ensemble de ces petites vacuoles présente l'aspect d'un réticulum. Tout autour de cette masse centrale, il y a une zone à vacuoles un peu plus grosses que celles du centre, et plus loin, à côté de la ligne de démarcation, il n'y a rien que de grosses vacuoles. Le périplasme change aussi d'aspect et l'on y voit apparaître des vacuoles plus ou moins grosses.

Dans les trabécules du périplasme, se trouvent des noyaux groupés en voie de dégénérescence (fig. 12, 13, planche XIV).

Au moment où cette vacuolisation a lieu, un globule central

homogène, mais irrégulier, fait son apparition. C'est le coenocentre ; il est entouré par une région remarquable de cytoplasme dense qui diffère du cytoplasme ordinaire en ce qu'il est plus coloré et qu'il contient beaucoup moins de vacuoles (fig. 9, planche XIII ; fig. 11, 12, planche XV). Chez *C. Bliti*, Stevens attribue l'origine de ce globule central à la fusion de plusieurs corps jaunes, mais il réserve son opinion sur ce point (Stevens, p. 161). Chez *P. parasitica*, Wager décrit son origine par condensation graduelle d'une masse de cytoplasme granuleux au centre de l'oosphère (Wager, p. 272). Pour *P. effusa*, nous partageons l'avis de Wager car le coenocentre a tout à fait l'aspect d'une masse de cytoplasme condensé et n'a aucun des caractères communs aux globules jaunes, ayant même une coloration différente. D'ailleurs ce n'est pas un organe permanent ; il apparaît au moment de la différenciation de l'oosphère, arrive à son maximum de développement lorsque le noyau sexuel entre dans l'oosphère et disparaît avant la fusion des deux noyaux sexuels ; parfois, cependant, des traces de son existence persistent jusqu'au moment de la fusion. D'après Wager, cet organe exerce dans *P. parasitica*, une attraction sur le noyau femelle et sur le tube fécondateur ; il contribuerait au rapprochement des deux noyaux sexuels, ce qui expliquerait, dans une certaine mesure, sa disparition après la fusion de ces derniers.

Nous partageons, pour *P. effusa*, l'avis de ce dernier auteur, mais nous pensons en outre que le coenocentre joue le rôle de réserve nutritive pour les deux noyaux qui s'agrandissent.

E. Pénétration du tube fécondateur dans l'oosphère.

Aussitôt que ce corps central apparaît, un des noyaux de la couche périplasmique rentre et vient en contact avec lui. Ce noyau est le pro-noyau femelle. Il est souvent fusiforme (fig. 12, planche XIV ; fig. 12, planche XV).

L'ooplasme au centre a une structure très fine, homogène ; il est composé de si petites mailles dont les vacuoles ne dépassent jamais la moitié de la grandeur du noyau ; il n'y a pas à ce moment de granules nets, ni de gouttelettes d'huile pouvant être mis en évidence par la triple coloration de Flemming. A la périphérie de l'ooplasme, il y a de grosses vacuoles de sorte que le périplasma est plus lâche ; ses trabécules sont souvent granuleux et ses noyaux sont fréquemment groupés aux intersections des trabécules (fig. 12, 13, planche XIV). La membrane qui sépare le périplasma de l'ooplasme commence à se former.

Le tube fécondateur pénètre dans l'oogone à l'endroit où la papille réceptive s'est formée. Tant qu'il reste dans le périplasma, il a toujours la forme d'un sac subglobuleux dont l'extrémité pointue touche la membrane de l'oosphère. Lorsqu'il pénètre dans l'oosphère, c'est par une portion tubulaire qu'il pousse à son extrémité (fig. 11, planche XIV ; fig. 3, planche XVI), de sorte que le tube fécondateur achevé, se présente sous une apparence très caractéristique ; il consiste en une portion tubulaire dans l'oosphère et une portion plus ou moins sphérique dans le périplasma. Il n'y a pas de noyau dans le tube au moment où il commence à se former, mais avant qu'il n'ait pénétré dans l'oosphère, un noyau de l'anthéridie y passe (fig. 11, planche XIV) ; comme il pénètre dans l'oosphère, un deuxième noyau pourrait passer également dans le tube. Au fur et à mesure que ce dernier s'allonge, le cytoplasme de l'anthéridie devient de plus en plus vacuolaire.

Immédiatement avant son passage dans le tube fécondateur, le noyau de l'anthéridie change de forme ; il devient un peu oblong et est souvent pointu à l'extrémité antérieure, ce qui lui permet de passer plus facilement par le pertuis étroit qui mène de l'anthéridie au tube fécondateur.

Quand l'extrémité du tube fécondateur arrive aux environs du coenocentre avec lequel le noyau femelle est toujours

en contact, elle se gonfle et devient presque globuleuse. A la suite de ce gonflement, la membrane de l'extrémité du tube devient très mince, à peine visible. Le tube s'ouvre et libère son contenu qui se mélange avec le cytoplasme de l'oosphère (fig. 3, planche XVI). Le noyau mâle, une fois sorti du tube fécondateur, vient en contact avec le coenocentre.

La membrane qui sépare l'ooplasme du périplasma est très peu modifiée par le passage du tube fécondateur. Le périplasma ne change guère d'aspect, ses noyaux sont en voie de dégénérescence, bien que leur membrane et leur nucléole soient encore visibles. Dans ces conditions, l'oosphère est mûre pour l'acte de fécondation. Le reste du tube fécondateur se résorbe dans le périplasma et sera ultérieurement inclus dans l'exospore, dont il n'a d'ailleurs jamais la nature, comme c'est le cas chez de nombreuses espèces de *Cystopus*.

F. Fécondation.

Le noyau mâle, sitôt après sa libération, est un peu plus petit que le noyau femelle (fig. 13, planche XIV) et se colore différemment par la triple coloration de Flemming, le noyau mâle en rouge et le noyau femelle en bleu. Cette différence de coloration entre les noyaux mâles et femelles ne se retrouve pas chez *C. candidus*, ni chez *C. Tragopogonis* ; cette différence de coloration est d'ailleurs éphémère ; les noyaux arrivent en contact, mais ne fusionnent pas tout de suite (fig. 15, 17, planche XIV) ; ils augmentent d'abord de volume, le noyau mâle grandissant plus vite que le noyau femelle ; les deux arrivent à être approximativement égaux. D'après Wager (*P. parasitica*) les deux noyaux s'écartent avant de se fusionner. Cette répulsion pourrait se produire aussi chez *P. effusa*, car nous avons vu parfois des préparations dans lesquelles les deux noyaux sexuels sont séparés l'un de l'autre (fig. 16, planche XIV). Comme ils sont deux ou trois fois plus grands qu'à l'origine, ils deviennent très

faciles à repérer dans l'oosphère ; leurs réseaux nucléaires sont très nets et les granules fortement colorables (fig. 16, 17, planche XIV). Quant aux nucléoles, ils ne sont pas très distincts dans le matériel fixé au liquide chromo-acétique et coloré par la triple coloration de Flemming, mais ils sont très nets dans le matériel fixé au liquide de Regaud et coloré à l'hématoxyline ferrique.

La membrane qui sépare l'ooplasme du périplasme, reste toujours distincte des autres membranes qui se forment ultérieurement. Stevens l'appelle « membrane primitive » ; elle est transparente, homogène, sans striation, très régulière en courbe et en épaisseur, entourée par le périplasme avec ses noyaux dégénérés. L'ooplasme a perdu son aspect finement vacuolaire. Les petites vacuoles du centre diminuent de nombre, mais augmentent de volume. Ces vacuoles marquent les régions où s'accumulent de grosses gouttelettes qui sont très visibles à l'état vivant. L'ooplasme se colore moins fortement mais, par contre, les deux noyaux qui sont maintenant très apparents dans l'ooplasme, se colorent plus fortement qu'auparavant (fig. 15, 16, 17, planche XIV).

La fusion des deux noyaux sexuels commence alors. Petit à petit, ces derniers se rapprochent à nouveau l'un de l'autre et arrivent intimement en contact. La membrane disparaît au point de contact et les contenus des deux noyaux se fusionnent (fig. 14, planche XIV ; fig. 9, 13, planche XV). Les nucléoles restent distincts jusqu'à ce que la fusion des deux noyaux soit presque achevée, puis ils se fusionnent à leur tour pour former un seul nucléole qui est fortement colorable. Rarement les nucléoles se fusionnent presque en même temps que le reste des noyaux. Dans ce cas, les deux nucléoles restent exactement au point de jonction des deux noyaux (fig. 8, planche XV). La fusion a lieu définitivement à l'état de repos des noyaux ; il n'y a aucune indication de fusion des chromosomes comme Berlèse l'a figuré dans ses études sur cette espèce et sur *P. Alsinearum*. Nous avons

trouvé un cas où les deux noyaux en fusion montraient de nombreux granules chromatiques qui n'étaient vraisemblablement pas des chromosomes (fig. 14, planche XIV).

Contrairement à ce que dit Berlèse, la fusion chez *P. effusa* est d'une extrême lenteur, elle n'est pas encore achevée au moment où l'exospore de l'œuf est presque formée.

On sait d'ailleurs que dans la famille des Péronosporées, il y a deux types de fusion : dans le premier type, la fusion a lieu très vite, presque aussitôt après l'entrée du noyau mâle dans l'oosphère, c'est le cas de *C. Bliti* (Stevens), *Cystopus candidus* (Wager), *Cystopus Portulacae* et *C. Tragopogonis* (Stevens). Dans le 2^e type, la fusion est d'une extrême lenteur, comme chez *P. parasitica* (Wager) et *P. effusa*.

On sait que la fusion retardée des noyaux que nous avons décrite tout à l'heure, n'est pas très rare chez les Thallophytes ; on peut l'observer dans les zygotes de *Spirogyra*, *Cosmarium*, *Closterium*, *Basidiobolus* et *Polyphagus*.

G. Maturation de l'oospore.

Au moment où la fusion a lieu, le cytoplasme de l'oospore contient une grande quantité de globules. Il est très difficile de déterminer leur nature. Dans ces globules, on distingue quelquefois de petits cristaux réfringents, surtout nets quand le matériel a été fixé dans le liquide de Regaud et coloré à l'hématoxyline (fig. 15, 17, 18, planche XIV) ; ils se fusionnent petit à petit pour former un globule central (fig. 9, 10, planche XV). Beaucoup d'auteurs, notamment Wager, qui a étudié *P. parasitica*, ont pris ces globules pour de l'huile. Mais nous ne pouvons pas nous rallier à leur avis pour deux raisons : premièrement, ces globules ne répondent pas tous aux réactifs des huiles, et deuxièmement, ils se précipitent généralement dans les vacuoles. Déjà Stevens, en étudiant *C. Bliti* avait émis des doutes sur la nature oléagineuse de ces globules.

Dans l'oospore, entre le globule central et la membrane, il y a un espace rempli de cytoplasme finement granuleux. Dans le cytoplasme, se trouve une tache arrondie ou allongée, parfaitement hyaline, qui avait déjà été indiquée par De Bary, qui pensait qu'il s'agissait d'un noyau, ce qui est exact. Ce noyau est visible, même à l'état vivant. En dehors de ce gros noyau, nous n'avons pas pu en trouver d'autres dans l'oospore mûre ; donc chez *P. effusa*, l'oospore est bien uninucléée (fig. 10, 13, planche XV). On sait que chez les *Cystopus*, l'oospore est plurinucléée, tandis que chez la plupart des *Peronospora*, l'oospore est uninucléée, c'est notamment le cas des *P. parasitica* (Wager), *P. effusa* et *P. calotheca*. Nous ne savons pas si lors de la germination, ce noyau unique se divisera plusieurs fois pour donner des zoospores ou bien s'il passera directement dans le tube germinatif. La figure 19, planche XIV, tend à faire croire que l'œuf en germant donne des zoospores, puisque le noyau unique semble commencer à se diviser, mais, nous ne pouvons rien affirmer sur ce point.

La formation des membranes chez *P. effusa*, est relativement très simple. Tout d'abord, on voit le périplasme, avec ses noyaux dégénérés se transformer en masses irrégulières de différentes grandeurs qui remplissent presque toute la couche périplasmique (fig. 7, planche XV). Ces masses sont très épaisses, homogènes, et se colorent en rouge foncé par la triple coloration de Flemming, tandis que l'endospore se colore en bleu par la même méthode. Cette dernière membrane est homogène, sans striation, régulière en courbe et en épaisseur. Entre l'exospore et l'endospore la membrane primitive semble persister encore et séparer les deux premières, d'où nous concluons que l'endospore se forme aux dépens de l'ooplasme, tandis que l'exospore provient du périplasme. On rencontre quelquefois des oosphères dans lesquelles s'accumulent des masses irrégulières colorables en bleu qui contribuent à la formation de l'endospore. La formation de l'endospore semble précéder quelque peu celle de l'exospore.

H. *Cytome et Vacuome.*

L'oogone de *Peronospora* est comparativement plus petit que celui de *Cystopus* ; malgré sa petite dimension, on y trouve beaucoup de cytosomes sphériques, dans le matériel fixé au liquide de Regaud et coloré à l'hématoxyline. Ces petits corps sphériques se trouvent surtout dans les trabécules du cytoplasme ; ils forment quelquefois des cercles autour des noyaux (fig. 1, 2, planche XVI). Les cytosomes de *Peronospora* paraissent plus petits que ceux du *Cystopus*, mais ils sont très nombreux car dans une seule coupe on peut en compter des centaines.

Dans l'anthéridie, malgré la dimension beaucoup plus petite de cet organe, les cytosomes sphériques ne font pas défaut, mais ils sont naturellement beaucoup moins nombreux que dans l'oogone, mais semblables en tous points. Ils se trouvent aussi, comme ceux de l'oogone, le long des trabécules du cytoplasme (fig. 1, 2, planche XVI).

Nous croyons que tous les cytosomes sphériques de l'oogone et de l'anthéridie, proviennent du mycélium. Quand le mycélium s'élargit pour donner les deux gamétanges, les cytosomes pénètrent en grande quantité dans le jeune oogone et la jeune anthéridie nouvellement formés, en même temps que le cytoplasme et les noyaux.

Lors de la différenciation de l'oosphère, on observe un partage des cytosomes de l'oogone entre le périplasme et l'ooplasme : dans le périplasme, la structure reste largement réticulaire et les cytosomes, faciles à mettre en évidence, restent très longtemps apparents ; dans la jeune oosphère, au contraire, le cytoplasme s'organise en un très fin réticulum : les cytosomes sont plus petits que dans le périplasme et ont parfois l'aspect de bâtonnets, ce qui pourrait laisser supposer l'existence d'une division à ce stade. Les cytosomes de l'oosphère sont beaucoup moins nombreux que ceux de

l'oogone, peut-être à cause de ce partage (fig. 4, 6, planche XVI). Au contraire, dans le périplasma, ils sont nombreux et quelquefois rassemblés comme le sont les noyaux dégénérés (fig. 4, planche XVI).

Malgré l'étroitesse du tube fécondateur de *P. effusa*, nous croyons que son cytoplasme comporte en dehors d'un noyau à l'extrémité, et peut-être d'un autre à la base, des cytosomes. De sorte que lorsque le tube libère son contenu dans l'oosphère, ce contenu apporte des cytosomes de l'anthéridie (fig. 3, planche XVI).

Il en résulte que l'œuf qui donnera naissance à de nouvelles générations, contient à côté de très nombreux cytosomes, d'origine femelle, un certain nombre de cytosomes d'origine mâle. A part ce fait capital, les cytosomes dans l'oosphère et dans le périplasma ne subissent pas beaucoup de modifications. Lorsque l'oospore se forme, les globules ou les endochromidies sont très nombreux et occupent presque tout le centre de l'oosphère. Ces globules se trouvent tantôt dans les vacuoles et tantôt dans le cytoplasme et dans ce cas différent des premiers par leur nature ; ils masquent presque tous les cytosomes, et gênent beaucoup leur observation ; mais lorsque ces globules se rassemblent pour former le globule central, nous retrouvons de nombreux cytosomes dans la couche pariétale de cytoplasme de l'oosphère. Ces cytosomes sont moins chromophiles qu'auparavant et paraissent de ce fait, un peu moins nets, mais il est certain qu'ils existent, bien que leur nombre soit un peu diminué. Quant aux cytosomes du périplasma, nous croyons qu'ils ont subi le même sort que les noyaux dégénérés, c'est-à-dire qu'ils ont peut-être contribué à la formation de l'exospore. Nous avons décrit le système vacuolaire de cette espèce dans les chapitres précédents, et n'y reviendrons pas.

II. — REPRODUCTION ASEXUELLE.

Le mycélium est assez large chez *Peronospora effusa* ; sa membrane est assez mince et son cytoplasme réticulé. Dans le matériel fixé au liquide de Regaud, le cytoplasme est plein de cytosomes sphériques ou allongés ; les noyaux prennent mal l'hématoxyline. Au contraire, dans le matériel fixé au liquide chromo-acétique, les noyaux sont très nets et pourvus d'une membrane nucléaire, d'un nucléole et de granules chromatiques. Les cytosomes observés après fixation au liquide de Regaud, sont volumineux et très chromatiques, mais parfois ils perdent leur chromatine de sorte qu'il ne subsiste que des sphères achromophiles. Les stades allongés du cytome représentent des aspects de division ou des étirements.

Les suçoirs représentent des ramifications dont la structure cytologique doit être normale, bien que nos colorations n'aient pas mis en évidence les noyaux. La membrane de ces suçoirs est assez épaisse.

Les conidies, d'une coloration naturelle violet sale, sont elliptiques, pédicellées, portées par des rameaux fasciculés, courts, épais, dichotomisés deux à sept fois ; les dernières ramifications sont épaisses, brièvement subulées, arquées. Le cytoplasme des conidies renferme des cytosomes sphériques avec quelques noyaux distribués çà et là (matériel fixé au liquide de Regaud).

Chez *P. effusa*, nous avons coloré vitalement par le rouge neutre les conidies. Nous avons réussi cette coloration en mettant le matériel frais dans le rouge neutre dilué pendant un temps minimum variant entre 2 et 3 heures. Les vacuoles se colorent en rouge vif dans les conidies, ainsi que dans les filaments ; elles sont généralement arrondies, mais de dimensions variables.

Nous avons coloré aussi vitalement les espèces suivantes :

Plasmopara nivea, *Peronospora Ficariae*, *Peronospora calothéca*. Les vacuoles que l'on rencontre dans les conidies de ces dernières espèces sont toutes arrondies et d'une coloration rouge vif. Chez *Peronospora Ficariae* sur *Ranunculus acris*, nous avons assisté à la germination d'une conidie et au passage d'une vacuole dans le tube germinatif. Ce fait rappelle la transmission des vacuoles qui se produit d'après Pierre Dangeard [12] lors du bourgeonnement des levures.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Dans ce travail, nous avons vérifié d'une part des faits déjà signalés, d'autre part, nous apportons une contribution originale.

Nous pouvons diviser les espèces que nous avons étudiées en 3 catégories :

Première catégorie. — *Cystopus Bliti* et *C. Portulacae* : Ces deux espèces ont une anthéridie et un oogone plurinucléés. Dans les deux organes, les noyaux se divisent deux fois : a) avant la différenciation de l'oosphère ; b) après la différenciation. La différenciation de l'oosphère se produit par condensation de masses cytoplasmiques qui se réunissent ensuite pour donner l'oosphère primitive. Dans les 2 mitoses, on trouve presque le même chiffre de chromosomes, c'est-à-dire 12 environ, et les deux centrosomes sont constants : enfin, les fuseaux sont toujours intranucléaires. Dans la deuxième mitose, les fuseaux sont beaucoup plus allongés qu'au cours de la première mitose et le matériel chromatique est moins abondant, c'est ce qui a fait penser quelquefois à une réduction. Le coenocentre dont la fonction est assez mal définie est assez petit chez ces deux espèces. Dans l'oosphère plurinucléée le tube fécondateur venant de l'anthéridie transporte une centaine de noyaux mâles qui copulent avec un nombre égal de noyaux femelles. Après la fusion de ces noyaux mâles et femelles, les corpuscules de l'oosphère se fusionnent pour donner un globule central à substratum mal défini. Dès le début de la formation de l'anthéridie et de l'oogone, on trouve des cytosomes sphériques ou en bâtonnets ; ces derniers représentant soit une déformation et un

étirement, soit un stade de division. Les cytosomes dans l'oosphère qui vient de se différencier, sont comparativement plus petits que dans les stades précédents, et les mailles du réseau cytoplasmique elles-mêmes sont plus ténues. Les précipitations métachromatiques ne manquent pas dans l'oogone ni dans l'anthéridie, elles sont très nombreuses, surtout dans le périplasma. L'oospore comprend en définitive une masse centrale faisant partie du vacuome et se colorant au rouge neutre ; elle est entourée d'une couche cytoplasmique renfermant de nombreux cytosomes sphériques et de nombreux noyaux de fusion à l'état quiescent ; et une membrane formée d'une endospore à deux couches et d'une exospore ornée.

Deuxième catégorie. — *Cystopus candidus* et *Cystopus Tragopogonis* : ces deux espèces ont un caractère commun, c'est que la fécondation se fait par fusion unique d'un seul noyau mâle et d'un seul noyau femelle. Ensuite, ce noyau de fusion se divise plusieurs fois pour donner une trentaine de noyaux dans l'oospore. Le coenocentre, assez volumineux, se compose de plusieurs couches concentriques, tout au moins au début ; il attire nettement les noyaux sexuels. La différenciation de l'oosphère dans cette 2^e catégorie se fait d'une autre façon que dans la 1^{re} catégorie ; il n'y a pas de condensation préalable de masses élémentaires mais simplement une condensation globale vers le centre. La première mitose dans l'oogone et dans l'anthéridie et la deuxième mitose dans l'oosphère et dans l'anthéridie chez ces deux espèces ne diffèrent guère de ce que nous avons précédemment décrit pour la 1^{re} catégorie ; le nombre des chromosomes est d'une douzaine environ. Mais la division du noyau de fusion est un peu différente ; le fuseau vraisemblablement intranucléaire, est énorme ; les chromosomes à la plaque équatoriale en dédoublement sont très nombreux, 24 environ ; les centrosomes sont très nets. Après la première mitose qui ramène à 12 le nombre normal des chromosomes, les deux

noyaux fils se divisent plusieurs fois ; au fur et à mesure que les divisions se continuent, le fuseau devient de plus en plus petit ; les noyaux de l'oospore mûre ont repris leur taille ordinaire et la structure qu'on retrouvera dans le mycélium. On retrouve dans presque tous les stades de développement des deux organes sexuels des cytosomes sphériques ou en bâtonnets et les précipitations métachromatiques. L'endospore est formée d'une seule couche, mais entre celle-ci et l'exospore se trouve une couche striée à canalicules. L'endospore est de nature cellulosique et l'exospore est de nature mixte callosique et cellulosique. Chez *Cystopus Tragopogonis*, nous avons trouvé des œufs en germination dans la nature. On assiste à la disparition du globule central, puis au clivage du cytoplasme ; chaque portion contient un noyau avec une couronne de cytosomes sphériques, exactement comme dans la conidie.

Troisième catégorie. — *Peronospora effusa* : Comme dans la 2^e catégorie, une seule paire de noyaux copulent, mais la seule différence est que le noyau de fusion ne se divise pas plusieurs fois pour donner de nombreux noyaux dans l'oospore, de sorte que dans l'œuf, il n'y a qu'un seul noyau ; une autre différence entre ces deux catégories, c'est que la fusion des deux noyaux sexuels chez *Peronospora effusa* se fait lentement. Ainsi, on voit souvent les deux noyaux sexuels rester seulement en contact, les membranes de l'œuf étant déjà formées. Le fuseau de la première mitose chez cette espèce n'est pas très net, et paraît se trouver dans le nucléoplasme. Le nombre de chromosomes varie entre 6 et 8, et les deux centrosomes sont assez nets. La deuxième mitose est assez difficile à rencontrer ; elle ne diffère pas beaucoup de la première. Le coenocentre chez cette espèce est assez volumineux et homogène, et attire également les noyaux sexuels, comme dans la 2^e catégorie. La couche à canalicules n'existe pas chez les *Peronospora* ; l'endospore consiste en une seule couche et l'exospore montre des ornements.

Les cytosomes sphériques ou en bâtonnets existent dans tous les stades, ainsi que les précipitations métachromatiques, surtout dans le périplasme. Dans l'oospore, le globule central a un substratum mal défini ; il occupe une place assez grande.

Pendant longtemps, on n'a guère envisagé dans les phénomènes de fécondation que la fusion des cytoplasmes et des noyaux lors de l'union des gamètes mâles et femelles ; les propriétés héréditaires que transmet l'œuf à la nouvelle génération seraient dues exclusivement ou presque aux noyaux sexuels.

La connaissance plus approfondie que l'on a prise dans ces dernières années des formations existant dans le cytoplasme, comme le *vacuome* et le *cytome* ont eu pour résultat d'attirer l'attention sur la transmission possible de ces formations à l'œuf par l'intermédiaire des gamètes.

Si nous considérons en nous aidant de l'excellent Traité de Sharp [29] la fécondation chez les animaux, nous constatons que l'on tend peu à peu à se mettre d'accord sur le fait que l'anthérozoïde renferme, à côté de son noyau des éléments qui correspondent au *vacuome* et au *chondriome*, cette dernière formation étant, comme on le sait, pour une part identique au cytome de la cellule végétale ; pour le *vacuome*, ce seraient les dictyosomes qui se fusionneraient en un appareil de Golgi qui finirait par donner un unique et large *acroblast* ; celui-ci à son tour fournirait, en se différenciant, l'*acrosome* de l'anthérozoïde ; or pour plusieurs histologistes, cet *acrosome* représenterait le *vacuome* dans l'anthérozoïde.

La présence du *chondriome* dans l'anthérozoïde serait représentée par le *nebenkern* (au sens de Bowen [3]) résultant de la fusion des chondriosomes ou cytosomes de la cellule végétale.

On s'achemine donc tout doucement à l'idée que dans la fécondation, les formations cytoplasmiques, *vacuome* et *cytome* sont, comme les noyaux transmises à l'œuf, par les deux gamètes.

Chez les végétaux qui possèdent des spermatozoïdes, on n'a guère réussi jusqu'ici à établir la transmission du *vacuome* et du *cytome* à l'œuf que par l'intermédiaire de l'oosphère ; on n'est pas arrivé jusqu'ici à fixer la place exacte dans l'anthérozoïde mûr, non seulement du *vacuome* et des *cytosomes*, mais aussi des *plastés* ; on en est réduit à se demander si ces formations seraient transmises à la nouvelle génération provenant de l'œuf uniquement par l'oosphère.

Cette incertitude, à la suite des résultats obtenus dans ce mémoire, n'existe plus, en ce qui concerne la reproduction des Péronosporées ; de nombreux cytosomes mâles sont fournis par l'anthéridie à l'oosphère ; que l'œuf soit simple ou composé, il renferme toujours à côté des nombreux cytosomes femelles, une notable quantité de cytosomes mâles.

Nous considérons ce résultat comme très important ; on retrouvera à n'en pas douter ce même mode de transmission des cytosomes pendant la fécondation dans tous les principaux groupes de Siphomycètes.

L'étude du *vacuome*, à cause des difficultés qu'elle présente, ne nous a pas permis d'arriver à des résultats aussi nets, en ce qui concerne la transmission de cette formation à l'œuf, par l'intermédiaire de l'anthéridie ; nous considérons cependant que la preuve que nous avons donnée de la nature et de l'origine du gros corpuscule central des oospores est de nature à faciliter grandement la solution du problème.

La question de la réduction chromatique se présentait d'une façon extrêmement délicate ; la petitesse des noyaux empêche de pouvoir dénombrer les chromosomes d'une façon sûre ; tandis que la plupart des auteurs parlent de 12 à 16 chromosomes, Ruhland [28] n'estime qu'à 4 ou 5 ceux du *Cystopus Lepigoni* ; malgré nos efforts, il nous a été impossible de fixer un chiffre autrement qu'approché.

Ce qui nous semble certain, c'est que le nombre des chromosomes dans les mitoses de l'oogone oscille entre 10 ou 12,

sans jamais dépasser ce chiffre ; parfois même, il paraît moins élevé.

On peut cependant admettre d'après nos observations sur la première division du noyau de fécondation dans l'oospore que la réduction se fait à ce stade ; certains aspects de la plaque équatoriale donnent l'impression d'une vingtaine de chromosomes, mais il s'agit ou de chromosomes bivalents ou d'une division, car au stade tonnelet, on ne compte plus qu'une douzaine de ces chromosomes, nombre que l'on retrouvera dans les mitoses suivantes.

Notre conclusion est que la réduction chromatique se produit chez les Péronosporées dès la première mitose du noyau de fécondation ; tout le développement se fait sous l'état haploïde ; l'oospore seule est à l'état diploïde ; on sait par ailleurs que beaucoup de Champignons sont dans ce cas.

On ne manquera pas aussi d'être frappé de l'augmentation considérable du noyau de l'oospore, après la fécondation et de la structure dense qu'il arrive à présenter, alors qu'au cours des divisions qui suivent, il reprend progressivement la dimension et la structure vésiculaire qu'il possède dans le mycélium.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté.

1^{er} QUESTION. — Phénomènes volcaniques.

2^e QUESTION. — Les Acariens nuisibles aux végétaux.

Vu et approuvé :

Paris, le 31 mai 1929.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer.

Le Recteur de l'Académie de Paris

S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

1. DE BARY. — Morphologie und Biologie der Pilze, 1884.
2. BERLÈSE. — Ueber die befruchtung und entwick. der Oosphäre bei den Peronosporen (*Jahrb. f. w. Bot.*, vol. XXXI, 1898).
3. BOWEN. — Résumé sur la spermatogénèse des Insectes (*Journ. Morph.*, vol. XXIX, 1924).
4. BUSGEN. — Die entw. der Phycomyceten sporangien (*Pringsheims Jahrb.*, vol. XIII, 1882).
5. DANGEARD (P.-A.). — Recherches histologiques sur les Champignons (*Le Botaniste*, série II, 1890).
6. — La métachromatine chez les Algues et les Champignons (*Bull. Soc. bot. de France*, t. 63, 1916).
7. — Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome (C. R. Acad. sc., vol. 169, p. 1005, 1919).
8. — La structure des Vauchéries dans ses rapports avec la terminologie nouvelle des éléments cellulaires (*La Cellule*, vol. XXXV, manuscrit déposé 22 juillet 1924).
9. — Recherches sur les tubercules radicaux des Légumineuses (*Le Botaniste*, série XVI, 1926).
10. DANGEARD (P.-A.) et KIN CHOU TSANG. — Recherches sur les formations cellulaires contenues dans le cytoplasme des Péronosporées (C. R. Acad. sc., vol. 182, 1926, p. 1256 et *Le Botaniste*, série XVII, p. 365, 1926).
11. DANGEARD (Pierre). — Recherches de biologie cellulaire : Evolution du système vacuolaire chez les végétaux (*Le Botaniste*, série XV, 1923, avec Bibliographie).
12. — Sur l'origine des vacuoles (*Le Botaniste*, série XVIII, 1927).
13. DAVIS. — The fertilisation of *Albugo candida* (*Bot. Gazette*, vol. XXIX, 1900).
14. FISCH. — Ueber das verhalten der zellkerne in fusionirenden Pilzen (*V. deutsch. Naturf. und Aerzte in Strassburg*, 1885).
15. GUILLERMOND. — Sur le rôle du chondriome dans l'élaboration des produits de réserve des Champignons (C. R. Ac. Sc., vol. 157, 1913, p. 63).
16. — Titres et travaux scientifiques. Lyon, 1921, avec indications bibliographiques sur ses nombreux travaux.
17. ISTVANFFI. — Ueber die Rolle der zellkerns bei der Entwicklung der Pilze (*Ber. d. d. bot. Gesells.*, vol. XIII, 1895).
18. LEWITSKY (G.). — Ueber die Chondrios. in pfl. Zellen (*Bericht. d. deutsch. Bot. Gesell.*, vol. 28, 1910).
19. — Die Chondriosomen als secret bildner (*Id.*, vol. 31, 1913).
— Ueber die Chondriosomen bei d. Myxomyceten (*Zeitschr. f. Botanik.*, 16^e année, 1924).

20. MAGNUS. — Ueber die Membr. d. oosp. v. *Cystopus Tragopogonis* (Ber. d. deuts. Gesellschaft, t. XI).
21. MANGIN. — Sur la désarticulation des conidies chez les Péronosporées (Bull. Soc. bot. de France, vol. XXXVIII, 1891).
22. — Recherches anatomiques sur les Péronosporées (Bull. Soc. d'Histoire naturelle d'Aulun, vol. 8, 1885).
23. MOREAU (M^{me} F.). — Les phénomènes de la sexualité chez les Urédinées (Le Botaniste, série XIII, 1914).
24. MIYAKE. — The fertilisation of *Pythium de Baryanum* (Ann. of Botany, vol. XV, 1901).
25. PARAT. — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme de la cellule animale. Thèse Paris, 1928.
26. ROSENBERG. — Ueber die Befrucht. von *Plasmopara alpina* (Bih. Till. K. Svenska Vet. Akad. Handl., vol. 28, 1903).
27. RUHLAND. — Die Befruchtung der *Albugo Lepigoni* und einige Peronosporen (Hedwigia, vol. 41, 1902, communication préliminaire).
28. — Studien über die Befruchtung der *Albugo Lepigoni* und einige Peronosporen (Jahr. f. wiss. Botanik., vol. XXXIX, 1904).
29. SHARP. — Introduction to Cytology, seconde édition, 1926.
30. STEVENS. — The compound oosphere of *Albugo Bliti* (Bot. Gazette, vol. XXVIII, 1899).
31. — Gametogenesis and fertilisation in *Albugo* (Bot. Gazette, v. XXXII, 1901).
32. Studies in the fertilisation of Phycomycetes (Bot. Gazette, v. XXXIV, 1902).
33. WAGER. — On the nuclei of *Peronospora parasifica* (Annals of Botany, vol. IV, 1889).
34. — Observations on the structure of *Cystopus candidus* (Brit. Ass. Reports, 1892).
35. — On the structure and reproduction of *Cystopus candidus* (Ann. of Botany, vol. X, 1896).
36. — The sexuality of Fungi (Ann. of Botany, vol. XIII, 1899).
37. — On the fertilisation of *Peronospora parasitica* (Annals of Botany vol. XIV, 1900).
38. ZALEWSKI. — Ueber Sporenabschnurung und Spor. bei den Pilzen (Flora, XII, 1883).
39. — Zur Kenntniss der gattung *Cystopus* (Bot. Centr., vol. 15, 1883).

PLANCHES HORS TEXTES

PLANCHE I

Cystopus candidus — Fix : Chromo-acétique.

1. Cytoplasme à mailles larges.
2. Les mailles du cytoplasme sont plus fines.
- 3 et 3 bis. Stade de prophase, réseaux et granules chromatiques sont visibles à l'intérieur des noyaux.
4. La papille commence à se former.
5. La papille montre deux zones différentes.
6. Quatre noyaux sont attirés par le coenocentre.
7. Stade suivant la 2^e mitose — l'ooplasme est creusé de grosses vacuoles remplies de précipitations chromatiques abondantes; il renferme plusieurs noyaux; l'un de ces derniers est au contact du coenocentre. Le coenocentre montre 2 zones concentriques différenciées.
8. Noyau enveloppé par les restes du coenocentre.
9. Noyau de fusion à la métaphase, 4 amas chromosomiques sont visibles.
10. Portion d'oospore montrant 2 noyaux, l'un en prophase, l'autre en métaphase.

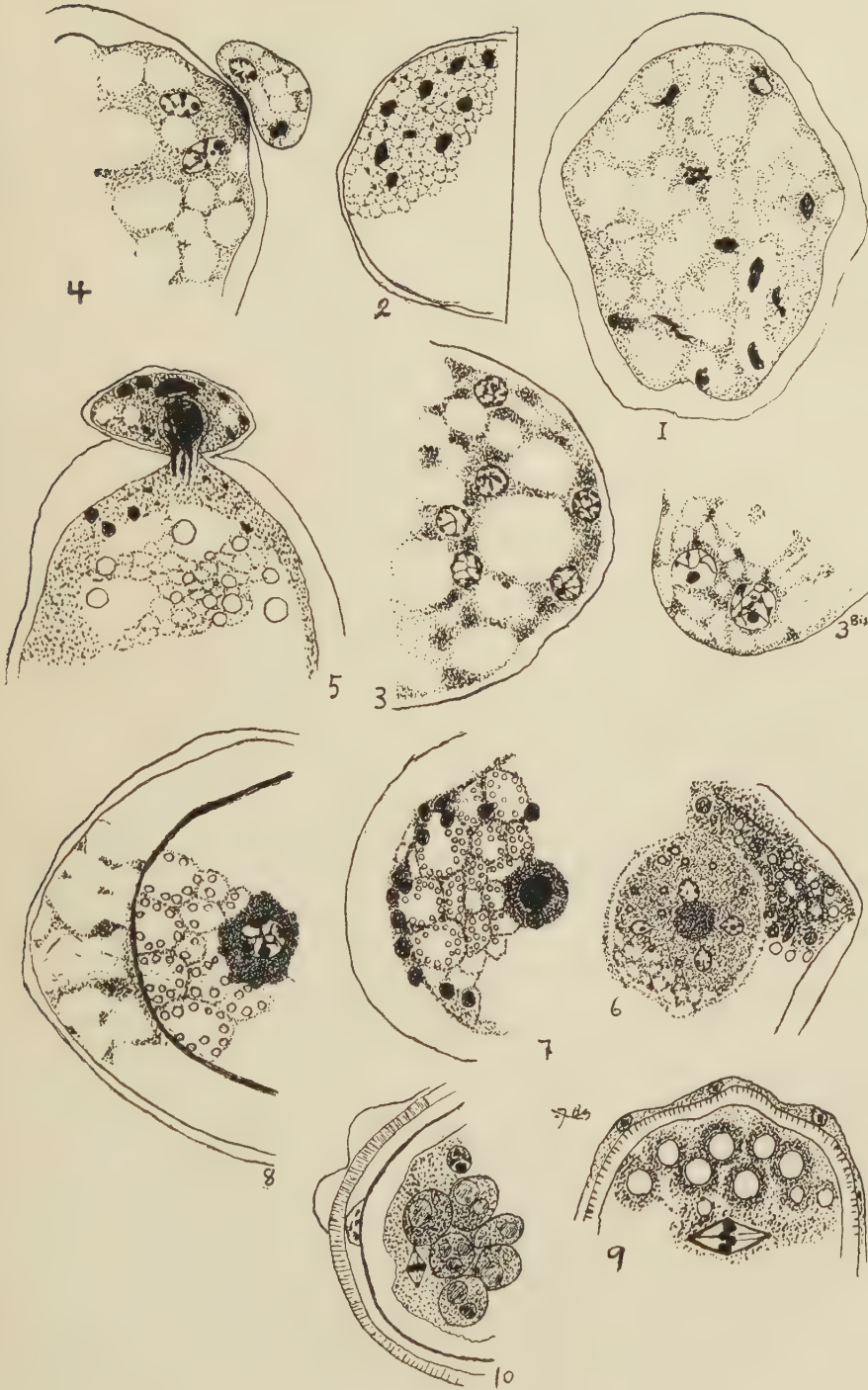


PLANCHE II

Cystopus candidus — Fix : Chromo-acétique.

1. Divers stades de mitose.
2. Dans le périplasme qui est creusé de volumineuses vacuoles se trouvent des noyaux à nucléole et réseau chromatique bien visible. L'ooplasme dont les vacuoles sont beaucoup plus petites montre un noyau contigu aux restes du coenocentre.
3. Deux noyaux en fusion.
4. Un noyau reste à côté du coenocentre qui a presque disparu.
5. Quatre noyaux en prophase dans l'œuf.
6. Le tube fécondateur se retire dans le périplasme.



PLANCHE III.

Cystopus candidus — Fix : Chromo-acétique.

1. Le périplasme est très réduit, dans l'ooplasme vacuolaire; on voit divers stades de la 2^e mitose montrant à la métaphase des centrosomes assez nets.
2. L'oosphère commence à se former — divers stades de la 1^{re} mitose notamment des fuseaux en métaphase intranucléaires.
3. Stade voisin de la 2^e mitose : Toutefois on ne voit guère qu'un seul fuseau au sommet de la figure — les autres noyaux souvent allongés montrent encore leur nucléole, — deux d'entre eux fusiformes sont accolés contre le coenocentre.
4. L'endospore commence à se former.
5. L'oosplasme se contracte et laisse un vide périphérique dans lequel se formera l'endospore — au centre, prophase de la première division du noyau de fusion.
6. Quelques phases de la première mitose : prophase, métaphase, anaphase.
7. La coque est formée — on voit encore les traces du tube fécondateur ; à l'intérieur, on voit un noyau en anaphase et deux noyaux résultant d'une division récente qui commencent à s'entourer d'une membrane.
8. On remarquera le noyau en métaphase montrant des chromosomes nombreux.
9. Anaphase du même noyau.

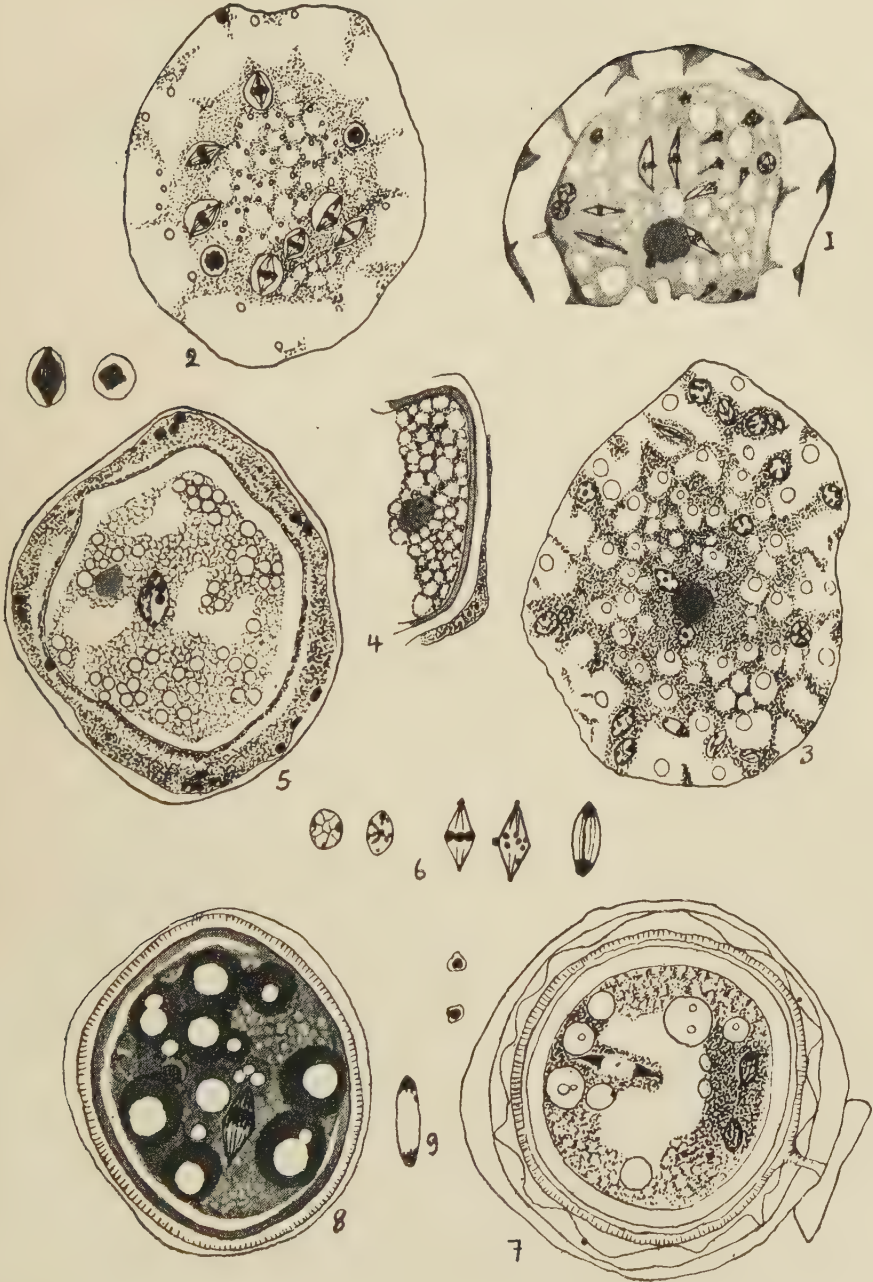


PLANCHE IV

Cystopus candidus — Fix : Regaud.

1. Cytosomes sphériques très nets, mais noyaux peu colorés.
2. Il se produit une sorte de cavité au centre, — commencement de la formation de l'oosphère, le cytoplasme est un peu repoussé vers la périphérie.
3. La papille pénètre dans l'anthéridie en entraînant des cytosomes.
4. Stade de différenciation — on voit des cytosomes sphériques à côté d'autres en bâtonnets. Le coenocentre est formé d'un noyau entouré d'une écorce à petites mailles.
5. Le tube fécondateur pénètre dans l'oosphère.
6. Un noyau fusiforme passe dans le tube fécondateur. Ce dernier est nettement étranglé.
7. Stade de différenciation de l'oosphère.
8. Le tube fécondateur très large libère un noyau.
9. Le cytoplasme renferme toujours d'abondants cytosomes sphériques et 2 noyaux rapprochés du coenocentre.

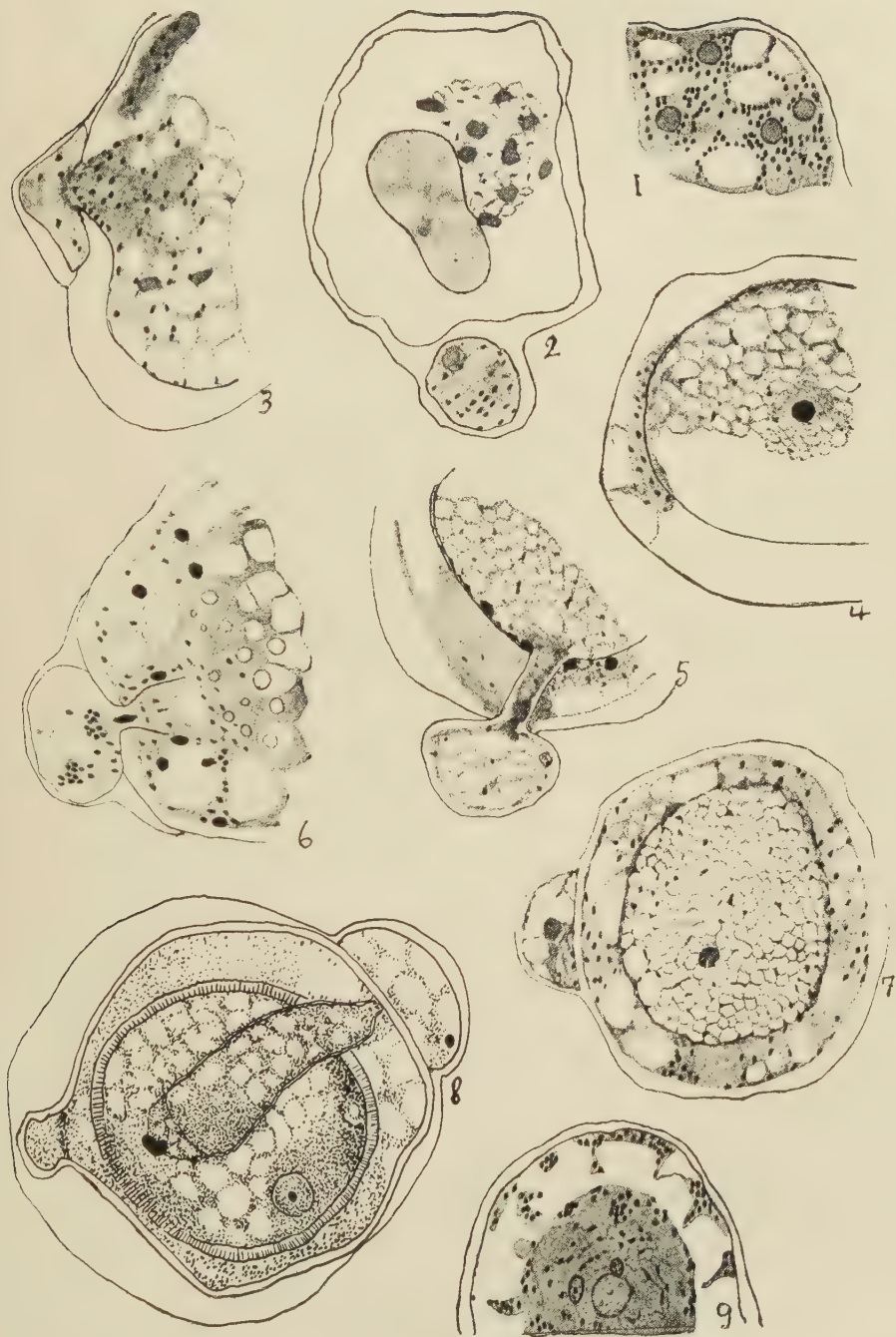


PLANCHE V

Cystopus Candidus — Fix : Regaud.

1. Stade succédant à la 1^{re} division — remarquer le grand développement du coenocentre et l'abondance des précipitations chromatiques dans les vacuoles.
2. L'œuf est presque formé ; on y voit trois noyaux et de nombreux cytosomes.
3. Fragment d'œuf montrant l'existence de 4 membranes.
4. Fragment d'oospore. La membrane primitive est très nette — le périplasma (à gauche) est dépourvu de corpuscules. Dans l'oosplasma, on voit deux masses remplies de corpuscules colorés (ces masses contribuaient à la formation de l'endospore).
5. Fragment d'oospore à un âge, plus avancé — la membrane à canalicules est formée — l'ooplasme renferme de nombreux corps jaunes (endochromidies).
6. Fragment de la coque montrant, malgré l'âge déjà avancé (les ornements commencent à se former) une petite enclave de cytoplasme avec trois noyaux très nets, à l'extérieur de la couche à canalicules.
7. Oospore montrant un coenocentre encore très développé.
8. Les 4 couches de la coque, de gauche à droite : endospore, couche primitive, couche à canalicules, couche à ornements.



PLANCHE VI

Cystopus Bliti — Fix : Regaud.

1. Le tube fécondateur commence à pénétrer dans l'oogone; dans ce dernier on remarque des amas de cytoplasme dense qui vont se fusionner pour donner l'oosphre rudimentaire. Les cytosomes sont sphériques pour la plupart et l'on voit de volumineuses endochromidies dans les vacuoles,
2. Le tube fécondateur devient plus volumineux et claviforme, mais ne libère pas encore ses noyaux (dans l'anthéridie se trouvent deux noyaux en dégénérescence). Dans l'oosphère on voit à côté de cytosomes sphériques de nombreux cytosomes allongés en bâtonnets.
3. Le tube fécondateur pénètre dans l'oosphère avec 3 noyaux et des cytosomes sphériques. Il est coupé obliquement de sorte qu'on ne voit pas sur la figure ses rapports avec l'anthéridie. Les cytosomes dispersés dans l'ooplasme sont agglomérés dans le périplasme

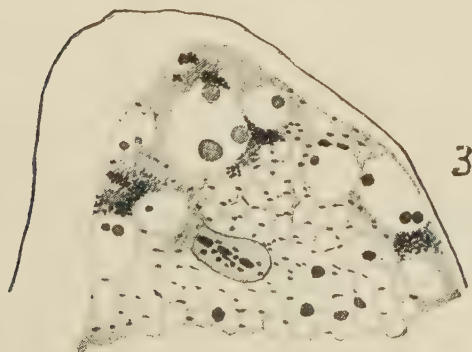
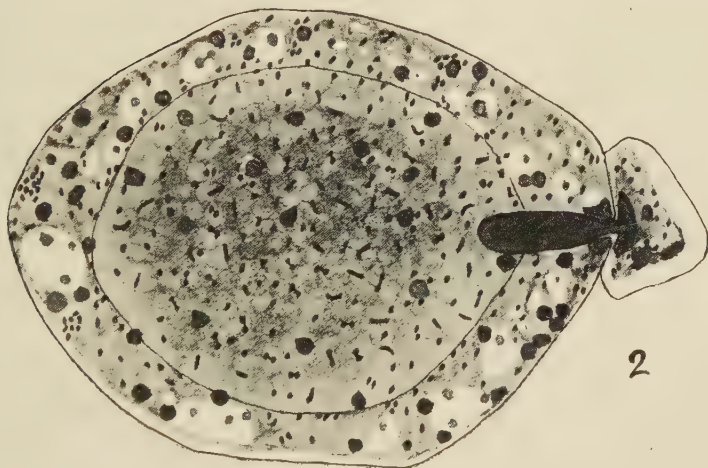
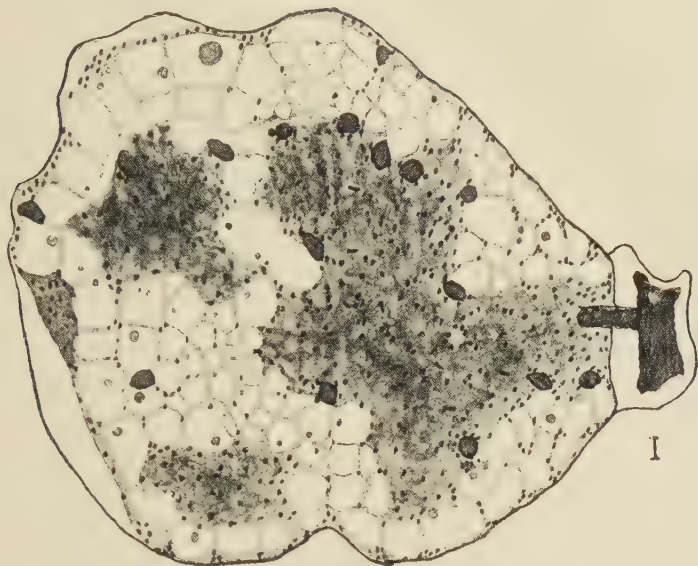


PLANCHE VII

Cystopus Bliti — Fix : Regaud.

1. Stade de fusion des noyaux — les cytosomes sont nombreux, ceux du périplasma sont agglomérés et sphériques, tandis que ceux de l'ooplasme sont dispersés et fréquemment allongés en bâtonnets. On voit en outre des endochromidies.
2. Jeune oogone. On y voit des cytosomes dont plusieurs (situés surtout à la périphérie) sont sphériques et parfois agglomérés et les autres sont allongés en bâtonnets (même état dans l'anthéridie).
3. Une portion de l'oosphère montrant les noyaux autour du coenocentre.
4. On remarque autour du vide qui s'est fait devant l'extrémité du tube fécondateur une zone de cytoplasme dense ; les noyaux contenus dans le périplasma sont un peu plus gros que ceux de l'ooplasme ; nombreux cytosomes sphériques et endochromidies volumineuses dans le périplasma.
5. Le tube fécondateur sans doute courbé a été coupé en deux endroits ; dans la coupe inférieure on voit quatre noyaux.
6. Stade de fusion des noyaux un peu plus avancé que dans la figure 1 ; il n'y a plus de cytosomes en bâtonnets.

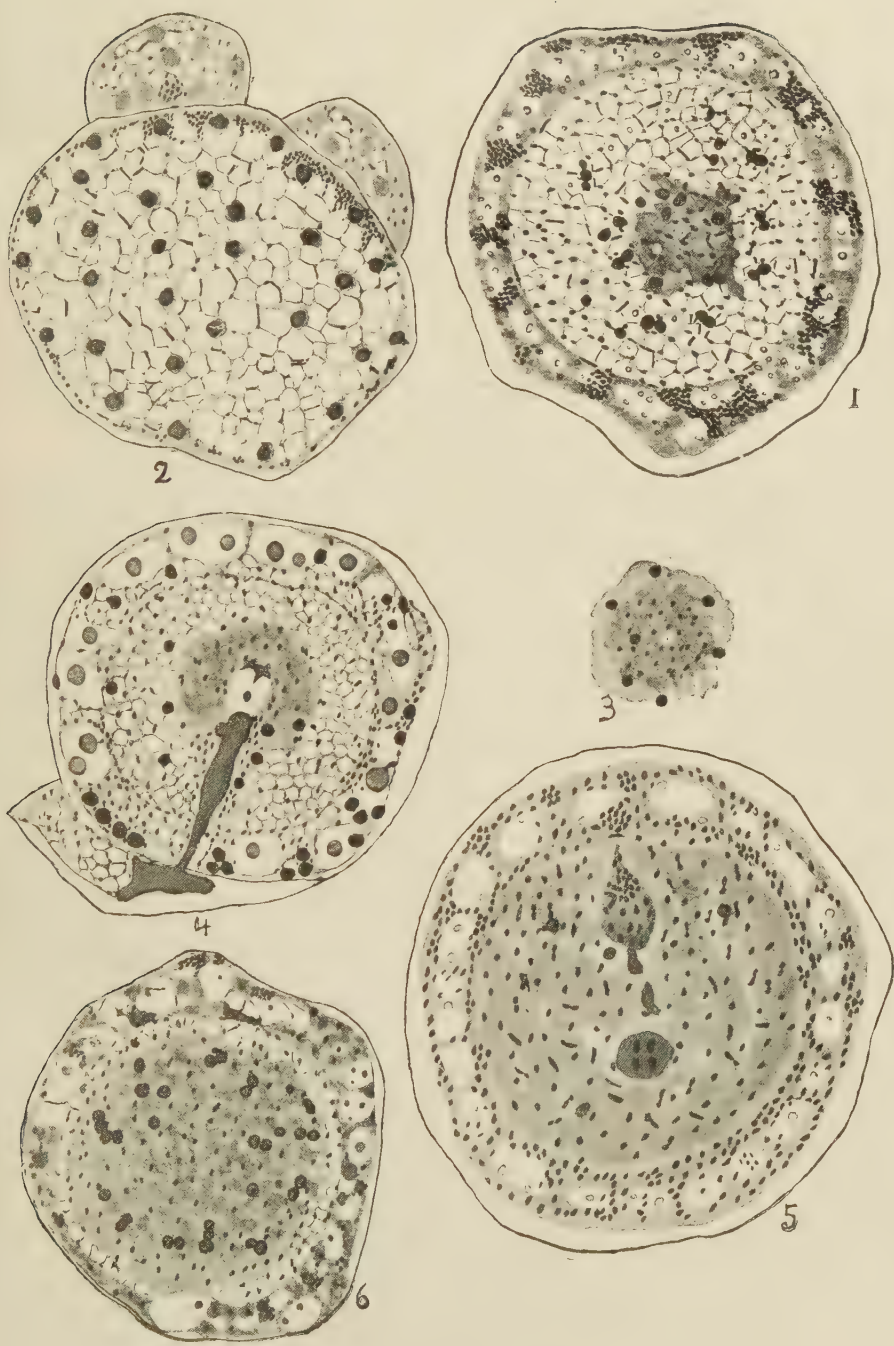
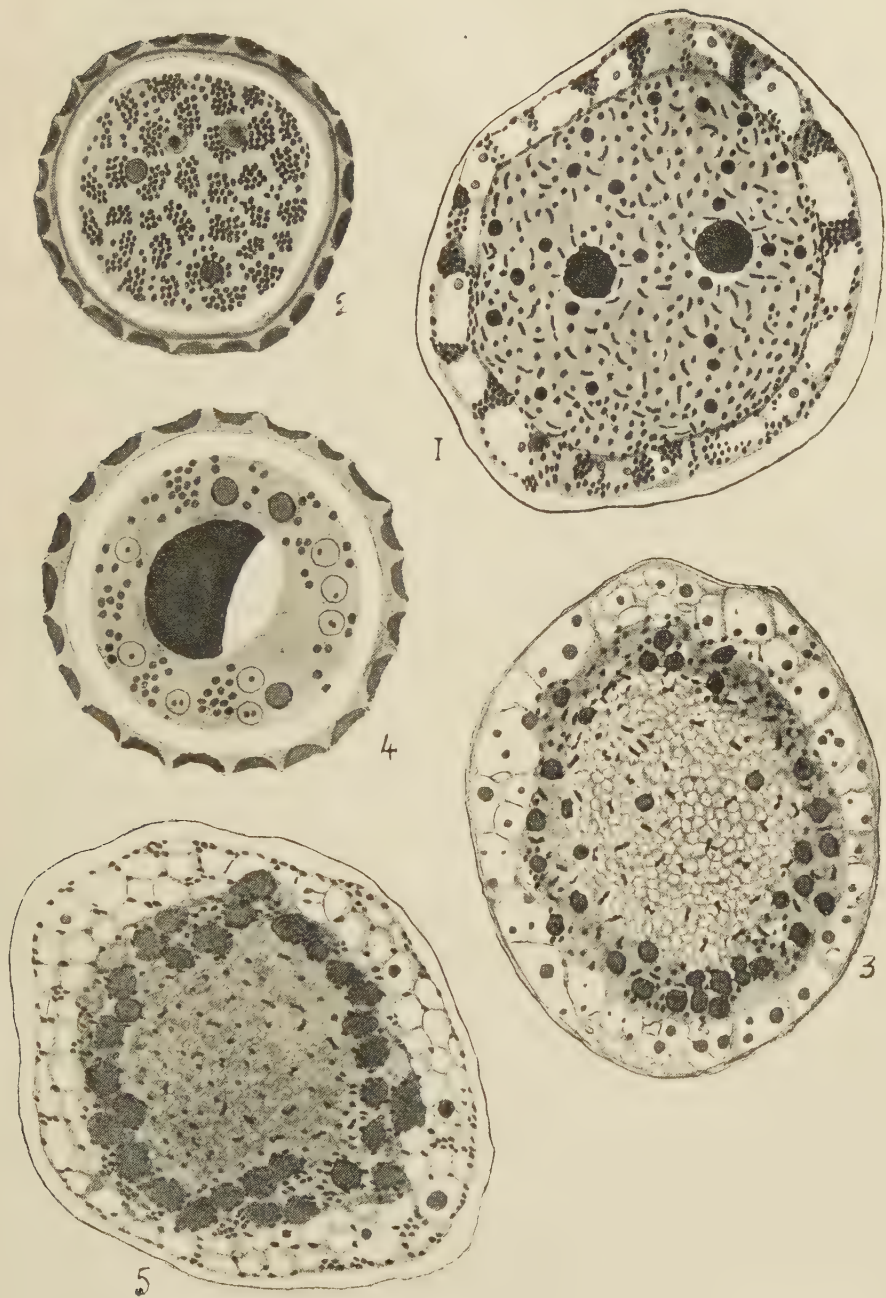


PLANCHE VIII

Cystopus Bliti — Fix : Regaud.

1. Stade précédent la fusion ; le tube fécondateur est coupé en deux endroits ?
On remarquera dans le périplasma des cytosomes sphériques agglomérés et dans l'oosphère de nombreux cytosomes en bâtonnets.
2. Œuf formé montrant à côté de quatre noyaux (dont deux à nucléole bien net et volumineux) de nombreux cytosomes agglomérés.
3. Stade de différenciation de l'oosphère ; on remarque la différence de taille très nette entre les petites vacuoles de l'ooplasme et les grosses vacuoles à endochromidies du périplasma ; les cytosomes sont fréquemment allongés en bâtonnets trapus.
4. Œuf, montrant autour d'un volumineux globule central des noyaux et de gros cytosomes sphériques.
5. Stade précédent celui de la figure 3 ; les noyaux sont en mitose à la limite de l'ooplasme et du périplasma, mais la fixation au Regaud empêche la différenciation des chromosomes.



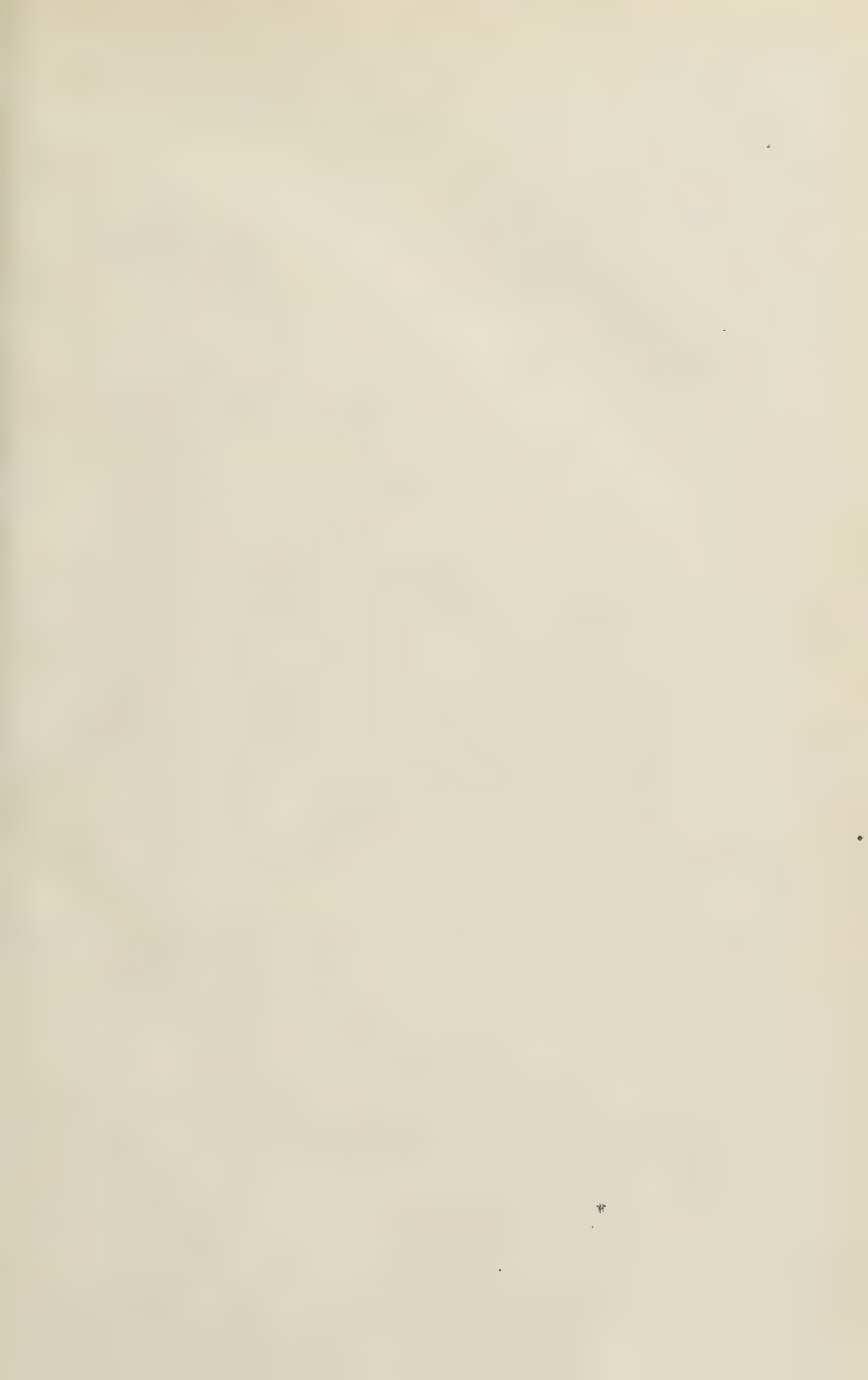


PLANCHE IX

Cystopus Portulacæ — Fix : Regaud.

1. L'oogone et l'anthéridie avec leurs nombreux noyaux et cytosomes.
2. Ornementation de la coque (vue de face).
3. Au contact de l'anthéridie le cytoplasme et les cytosomes s'accumulent sur l'emplacement de la future papille de l'oogone.
4. Stade de fusion des noyaux. Les cytosomes sont dispersés et peu nombreux, mais, par contre, les vacuoles de l'ooplasme sont bourrées de précipitations chromatiques.
5. Stade de différenciation ; on voit la papille et le coenocentre. Des cytosomes sphériques se trouvent dans l'oosphère rudimentaire et des précipitations chromatiques dans le périplasme.
6. Stade de différenciation. Noyaux sont en métaphase à la limite de l'ooplasme. Beaucoup de cytosomes dans l'oosphère, moins dans le périplasme et l'anthéridie.
7. Fragment de l'oospore — a l'intérieur d'une membrane ornée on aperçoit quatre noyaux, des cytosomes et des endochromidies.
8. Fragment de l'oospore montrant l'endospore et l'exospore bien différenciées.

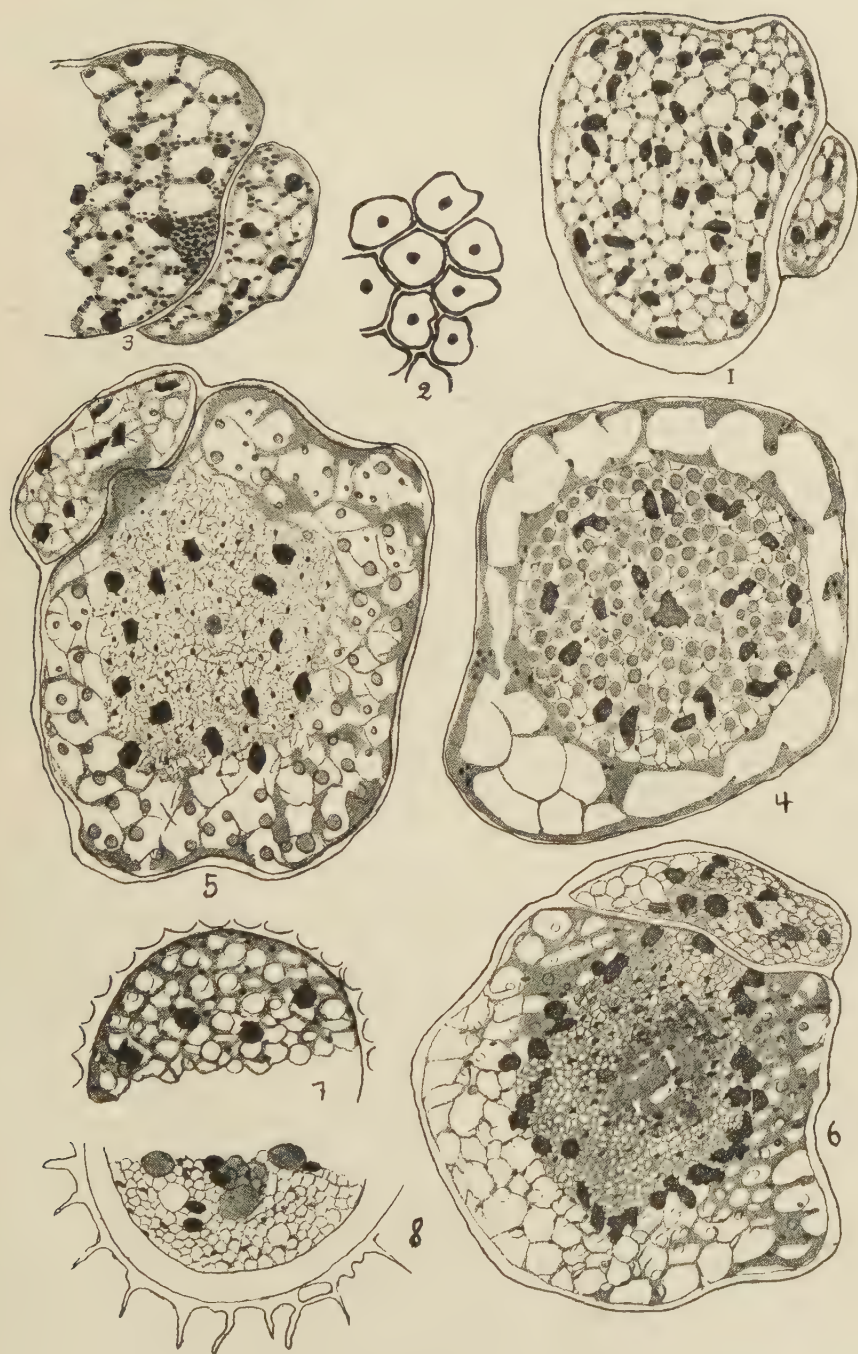


PLANCHE X

Cystopus Portulacae — Fix : Regaud.

1. Le tube fécondateur commence à pénétrer dans l'oogone (on voit encore dans l'anthéridie les restes de la papille). Dans cette figure comme dans les suivantes de cette planche et de la planche suivante, on remarquera la présence de nombreux cytosomes.
2. Œuf formé contenant des globules qui commencent à s'agglomérer.
3. La papille commence à pénétrer dans l'anthéridie.
4. Stade de différenciation.
5. Le tube fécondateur vient de libérer son contenu.
6. 2 anthéridies s'appliquent sur un même oogone.

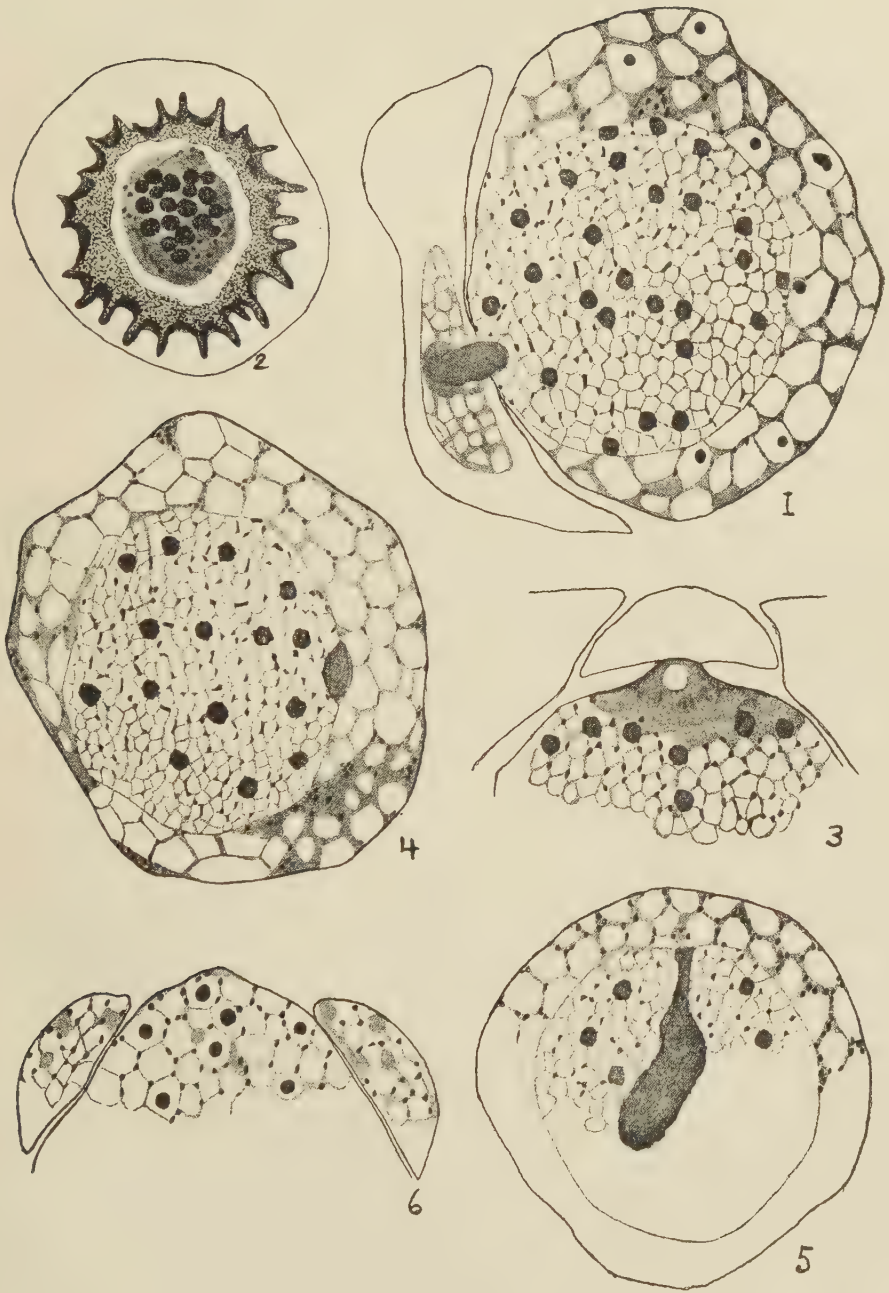


PLANCHE XI

Cystopus Tragopogonis — Fix : Regaud.

1. Jeune oogone.
2. Le tube fécondateur très grêle a atteint la ligne de démarcation entre l'ooplasme et le périplasme ; le coenocentre est bien développé, c'est le stade de la première mitose.
3. Stade de la deuxième mitose, un noyau est accolé au coenocentre.
4. 2 noyaux en voie de fusion.
5. 2 noyaux se fusionnent — On remarquera que la membrane à canalicule est déjà formée.
6. Cytosomes dans un œuf presque mûr.

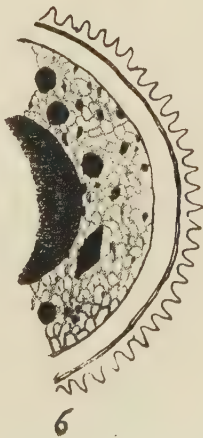
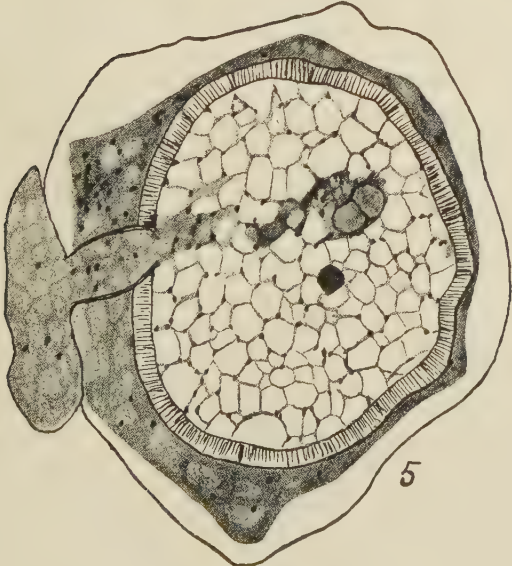
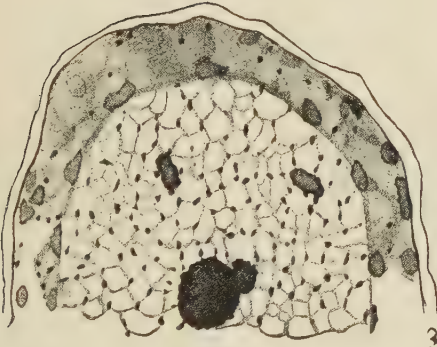
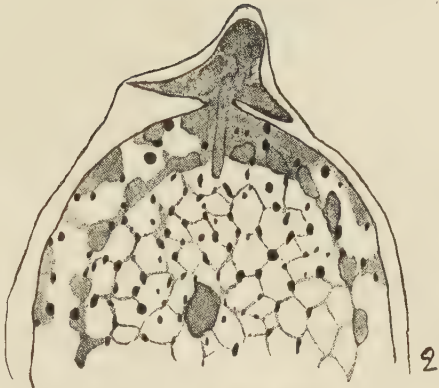


PLANCHE XII

Cystopus Tragopogonis — Fix : chromo-acétique.

1. Noyaux en prophase dans l'oogone ; dans chacun d'eux on distingue 6 à 8 granules ou davantage qui correspondent peut-être aux chromosomes.
2. Métaphases des mêmes noyaux (On remarquera la netteté des centrosomes dans certains fuseaux).
3. On voit dans le périplasme 7 noyaux destinés à dégénérer, et au contact du coenocentre un noyau sexuel.
4. Stade anormal dont l'explication nous échappe.
5. 2 noyaux en fusion sur des traces du coenocentre.
6. Stade de différenciation : la membrane primitive est déjà bien formée — dans le périplasme des noyaux en dégénérescence, dans l'ooplasme 2 gros noyaux et des corps jaunes (endochromidies).
7. La couche à canalicules est bien formée, les noyaux du périplasme s'agglomèrent, ce qui annonce dégénérescence — dans l'ooplasme un noyau en prophase et un noyau en métaphase.
8. Fragments de deux oospores, montrant divers stades de la mitose, prophases avec de nombreux granules ou une seule masse volumineuse, et métaphases (le nombre des chromosomes est difficile à déterminer).
9. Fragment d'oospore avec double membrane et 3 noyaux au repos.



PLANCHE XIII

Peronospora effusa — Fix : Flemming.

1. La papille commence à pénétrer dans l'anthéridie.
2. Jeune oogone et jeune anthéridie.
3. Prophases montrant la chromatine refoulée d'un seul côté (Synapsis).
4. Stade analogue à celui de la fig. 2.
5. Divers stades de la division des noyaux.
6. Début de la différenciation de l'oosphère — les noyaux sont rangés à la périphérie.
7. Stade analogue à celui de la fig. 5.
8. Stade de la métaphase ; les chromosomes se trouvent dans un espace hyalin entouré de nucléoplasme dense.
9. La distinction entre le périplasme et l'ooplasme est nette et régulière, le coenocentre est bien visible.
10. Stade analogue à celui de la fig. 8.

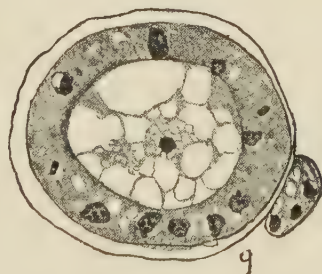
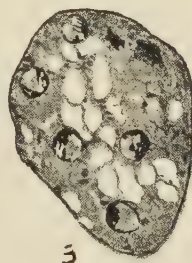
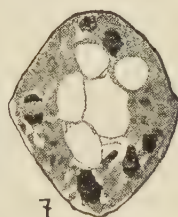
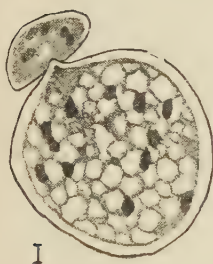
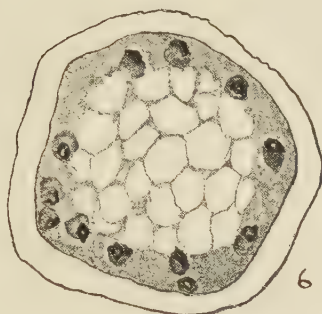


PLANCHE XIV

Peronospora effusa — Fix : Flemming.

11. Le tube fécondateur cylindrique vient d'envoyer un noyau dans l'oosphère.
12. Attraction d'un noyau par le coenocentre — dans le périplasme dense de nombreux noyaux sont en dégénérescence.
13. Début de la différenciation de l'oosphère.
14. 2 noyaux en voie de fusion, avec de nombreux granules chromatiques. Des corps jaunes ou endochromidies dans l'oosphère et dans le périplasme.
15. Stade de fusion un peu moins avancé que le précédent.
16. Deux noyaux sont en voie de se rapprocher.
17. Approximativement même stade que figure 15.
18. Volumineux noyau de fusion dans lequel la chromatine est refoulée à la périphérie.
19. Début de la division du noyau de fusion.

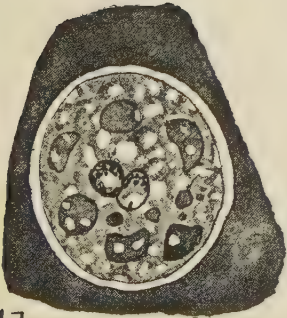
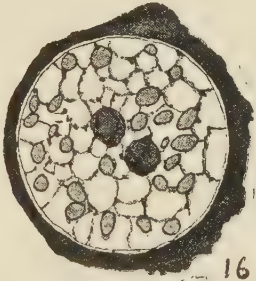
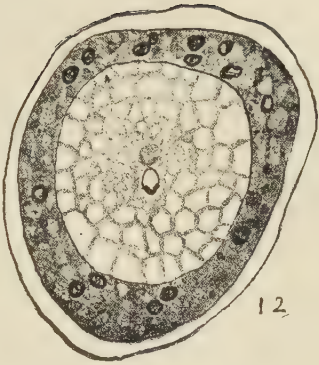
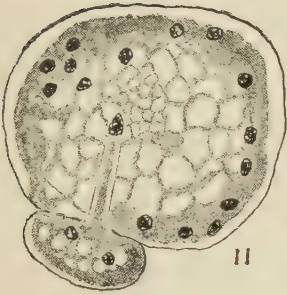


PLANCHE XV

Peronospora effusa — Fix : Regaud.

7. L'exospore est en voie de formation. Dans le périplasme, on voit de très gros corpuscules fortement colorés.
8. Deux nucléoles des noyaux en fusion sont en voie de se confondre.
9. Stade un peu antérieur à celui de la fig. 8. Des cytosomes dans l'ooplasmе.
10. Noyau de fusion avec un nucléole volumineux.
11. Le coenocentre formé d'une partie dense au milieu, entourée de petites mailles réticulées
12. Le coenocentre et un noyau à côté de lui.
13. Noyau de fusion avec son réseau chromatique.

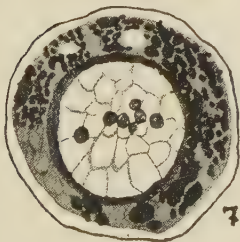
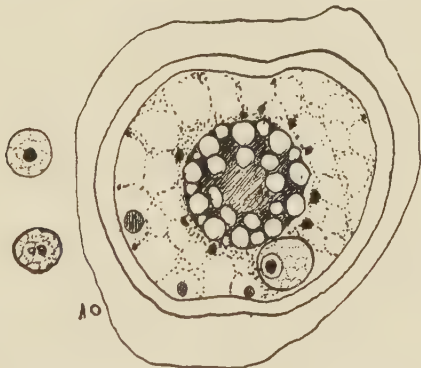
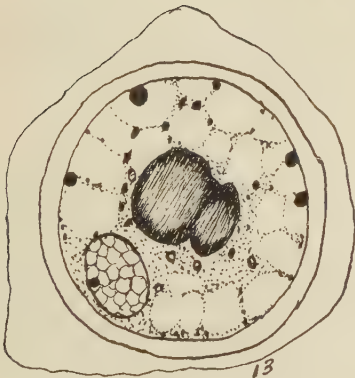
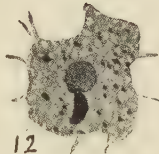
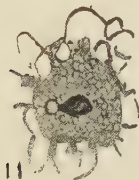
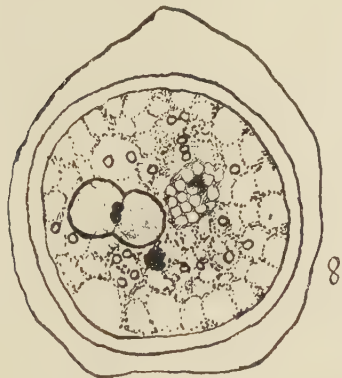
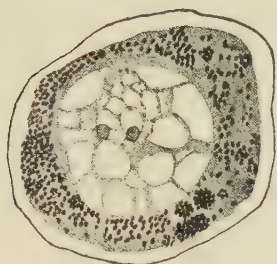


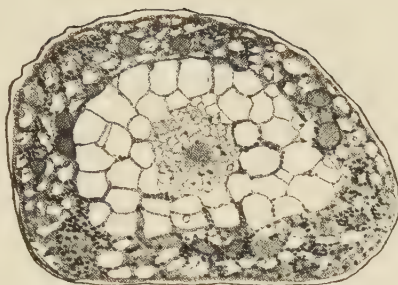
PLANCHE XVI

Peronospora effusa — Fix : Regaud.

Les cytosomes sont visibles dans toutes les figures de cette planche : *a*) ils sont très nombreux et souvent en bâtonnet dans le jeune oogone et la jeune anthéridie (fig. 1-2) ; *b*) après la différenciation (fig. 4-5), ils sont souvent nombreux dans le périplasme ; *c*) la figure 3 montre l'apport de nombreux cytosomes par le tube fécondateur.



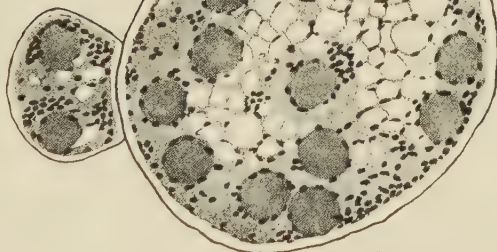
5



4



2



I



6



3

326. — Impr. Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris. — 6-29.
